

Aus dem Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin

Geschäftsführender

Direktor: Prof. Dr. E. Wüstenfeld

Arbeitsgruppe Prof. Dr. H.-J. Merker

Untersuchungen zum Problem des
morphogenetischen Einflusses des Blut-
drucks auf die Entwicklung der
Aortenwand des Huhns

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Rainer Herken
aus Berlin

1976







Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548818_0076

Geschäftsführender

Direktor: Prof. Dr. E. Wüstenfeld

Arbeitsgruppe Prof. Dr. H.-J. Merker

Untersuchungen zum Problem des morphogenetischen Einflusses des Blut- drucks auf die Entwicklung der Aortenwand des Huhns



Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Rainer Herken
aus Berlin

Referent: Professor Dr.med. Hans-Joachim MERKER
Korreferent: Professor Dr.med. w. Schwarz
Promotionsdatum: 28. Juni 1976



Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen
Fachbereiche der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Rainer Herken
an der Freien Universität Berlin

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
A) Einleitung	1
B) Material und Methoden	15
C) Befunde	19
D) Diskussion	31
E) Zusammenfassung	38
F) Literaturverzeichnis	
G) Bildanhang	

S i n n l i n i e

Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit sollte es sein, die Beziehungen zwischen dem Verhalten des Blutdrucks im embryonalen Kreislauf und den morphologisch faßbaren Differenzierungsvorgängen in der Aortenwand nachzuweisen. Damit sollte geklärt werden, ob der Blutdruck ein morphogenetischer Faktor ist, der die unterschiedliche Differenzierung zu Arterien bzw. zu Venen entscheidend beeinflusst. Eine sichere Aussage über die Einflüsse der Hämodynamik auf die Gefäßentwicklung und umgekehrt über die Prägung der Druckverhältnisse des Kreislaufs durch genetisch vorbestimmte Gefäßdifferenzierungen erscheint aber nach Durchsicht der Literatur sehr schwierig und auch problematisch.

Bei Druckmessungen an Kiemenbogenarterien von Hühnerembryos zwischen dem dritten und fünften Entwicklungstag wurde festgestellt, daß der Druck in der 3. und 4. Kiemenbogenarterie am höchsten ist (Pexieder 1969). Aus diesen beiden Kiemenbogenarterien entstehen später ein Teil der Aorta sowie der A. carotis communis und A. subclavia dextra (Hochstetter 1906, Evans 1911, Bremer 1912, Patten 1928). Den übrigen Kiemenbogenarterien kommt für die spätere Entwicklung des Gefäßsystems keine große Bedeutung zu. Daraus zog man den Schluß, daß die besondere Höhe des Blutdrucks in der 3. und 4. Kiemenbogenarterie Ursache dafür sei, daß die mächtige Entwicklung der oben genannten großen Arterien von diesen beiden Kiemenbogenarterien ausgeht. Ein morphogenetischer Einfluß des Blutdrucks schien damit bewiesen zu sein. Bedenkt man aber, welche Strömungsverhältnisse in den Kiemenbogenarterien von Hühnerembryos zwischen Tag 3 und Tag 5 auf Grund der morphologischen Verhältnisse zu diesem Zeitpunkt und unter Berücksichtigung physikalischer Strömungsgesetze zu erwarten sind, zeigt sich, daß die These vom morphogenetischen Einfluß des Blutdrucks durch die oben angeführten Druckmessungen nicht bewiesen ist.

Nach dem Ohmschen Gesetz ist der Druck (p) das Produkt aus der Stromstärke (I) einer Flüssigkeit und dem Gefäßwiderstand (W): $p = I \times W$. Die Stromstärke wiederum wird nach dem Hagen-Poiseuille'schen Gesetz durch den Radius des Gefäßes (r), deren Länge (l) und die Druckdifferenz zwischen beiden Gefäßenden (Δp) bestimmt: $I = \frac{\pi r^4}{8 \eta l} \times \Delta p$, wobei η = Viskosität der Flüssigkeit. Dieses Gesetz kann zwar zur Bestimmung der Stromstärke des Blutes nur bedingt angewendet werden, da in diesem Fall nicht alle physikalischen Kriterien zur Anwendung des Gesetzes erfüllt sind, es reicht aber zur Klärung von Strömungsverhältnissen im Kreislauf aus. Da die 3. und 4. Kiemenbogenarterie des Hühnerembryos zwischen Tag 3 und Tag 5 den größten Radius aller sechs bzw. fünf Kiemenbogenarterien haben (die 1. Kiemenbogenarterie ist ab Tag 4 nicht mehr vorhanden (Patten 1927)) und am kürzesten sind, die Druckdifferenz zwischen den Gefäßenden aller Kiemenbogenarterien etwa gleich groß ist (es handelt sich immer um die Druckdifferenz zwischen linkem Ventrikel und der Aorta), fließt der Hauptstrom des Blutes zwischen linkem Ventrikel und der Aorta durch die 3. und 4. Kiemenbogenarterie. Da die Kiemenbogenarterien dem Blutstrom parallel geschaltet sind, kann der Gefäßwiderstand gegen den das Blut strömen muß bei der Bestimmung des Drucks vernachlässigt werden, da es immer der Widerstand der Aorta bzw. der Peripherie ist. Das bedeutet, daß in den Kiemenbogenarterien, in denen die größte Stromstärke herrscht, der Blutdruck am höchsten sein muß. Da wie oben angeführt der Blutstrom in der 3. und 4. Kiemenbogenarterie am stärksten ist, muß in diesen beiden Arterien somit auch der Blutdruck am höchsten sein. Eine Druckmessung in bestimmten Abschnitten des embryonalen Kreislaufs und eine Zuordnung zur makroskopisch erkennbaren Gefäßentwicklung wird deshalb nur schwer den Schluß auf einen morphogenetischen Einfluß des Blutdrucks zulassen, weil der Druck immer erst die Folge physiologischer Gesetzmäßigkeiten ist, die durch

anatomische Verhältnisse (z.B. Lumenweite, Elastizität, Gefäßlänge) bedingt sind.

Etwas anderes ist es, wenn man die Gefäßentwicklung bzw. die Wandentwicklung auf zellulärer Ebene unter dem Aspekt der cytologischen Differenzierung und der makromolekularen Ordnung betrachtet. Licht- und elektronenmikroskopisch sichtbare Gefäßveränderungen beeinflussen erst dann den Blutdruck, wenn sie als Längen-, Elastizitäts-, Querschnitts- oder Wanddurchlässigkeitsänderungen hämodynamisch wirksam werden. Für alle intra- und extrazellulären Stufen der embryonalen Gefäßentwicklung, die sich noch nicht in physikalische Strömungsgesetze einordnen lassen, wie z.B. biochemische Zellaktivitäten, Zelldifferenzierungsstufen, Änderungen der Zellanordnung und Zellformänderungen, bleibt es bisher ungeklärt, ob sie durch den Blutdruck beeinflussbar sind. Werden solche Veränderungen in der Gefäßwand eine Zeit nach einem Blutdruckanstieg in dem betreffenden Gefäß gesehen, liegt die Vermutung nah, daß der Blutdruckanstieg die Ursache der histologischen Veränderung war. Kommt es dagegen bei gleichbleibenden Druckverhältnissen zu Änderungen der Zellmorphologie kann ein morphogenetischer Einfluß des Blutdrucks bestritten werden.

In der vorliegenden Arbeit soll die Entwicklung der Aorta des Hühnerembryos von Tag 3 bis Tag 12 der Bebrütung lichtmikroskopisch, autoradiographisch und elektronenmikroskopisch verfolgt werden. Gleichzeitig soll der Blutdruck während dieser Entwicklungsperiode gemessen werden, um zu sehen, ob es während dieser Zeit zu einer signifikanten Druckänderung kommt. Solche Vorgänge könnten dann morphologisch faßbaren Veränderungen der Gefäßwand zugeordnet werden.

Es müßte weiterhin auf der Grundlage vorhandener Publikationen und an Hand eigener Vorstellungen noch geklärt werden, ob alle Wandabschnitte in ihrer Entwicklung durch

ien Blutdruck beeinflußt werden können. Es gibt Gefäßwandbereiche, die dafür geeignet sind und andere, deren Entwicklung wahrscheinlich von vornherein kaum durch den Blutdruck beeinflusst ist.

Endothel:

Am Tag 3 bestehen die Blutgefäße nur aus einem einfachen Endothelschlauch und man kann sie weder licht- noch elektronenmikroskopisch als Arterien und Venen identifizieren (Borowski 1972), obwohl auch zu diesem Zeitpunkt in den Arterien ein höherer Druck als in den Venen herrschen muß. Nach heutigen Vorstellungen (Evans 1908, Bremer 1912, Gonzalez-Crussi 1970) entwickeln sich diese Endothelschläuche aus angiogenetischen Zellansammlungen, die im Splanchnomesoderm des Embryos liegen und kurz vor der Somitenbildung auftreten. Diese Zellansammlungen breiten sich weiter aus, entwickeln so ein Lumen, vereinigen sich untereinander und bilden einen Plexus aus kleinen Blutgefäßen, aus dem dann durch Zusammenfließen einzelner lateraler Abschnitte des Plexus Endothelschläuche entstehen. Der mittlere Teil des Plexus bildet schließlich den Herzschlauch. Das angiogenetische Material für die dorsalen Aorten liegt in der Nähe der Mittellinie des Keimschildes (Langman 1970). Aus ihm entstehen ebenso wie oben beschrieben die dorsalen Aorten. Sind sie ausgebildet, verbinden sie sich mit dem Plexus, der den Herzschlauch bildet und der Kreislauf ist geschlossen.

In der Entwicklungsperiode der Gefäße bis zu einfachen Endothelschläuchen gibt es somit keinen Abschnitt, an dem der Blutdruck als morphogenetischer Faktor eine wichtige Rolle spielen kann, da die Entwicklung zu Endothelschläuchen zu einer Zeit stattfindet, in der überhaupt noch kein geschlossener Kreislauf vorhanden ist. Man muß also annehmen, daß das Endothel als Grundgerüst für die weitere Gefäßentwicklung aus genetisch vorge-

prägendem Material gebildet wird und der Blutdruck diese Entwicklung nicht beeinflussen kann.

Media:

Am Beginn der Gefäßentwicklung werden die Endothelschläuche von lockerem Mesoderm umgeben, in dem keine Ausrichtung der Zellen zu den Gefäßen hin zu erkennen ist (Borowski 1972). In der weiteren Entwicklung ordnen sich die in Gefäßnähe liegenden Mesodermzellen mehr oder weniger circular um das vom Endothel gebildete Lumen herum an (Fyfe, Gillman 1968). Ist diese Ausrichtung der Mesodermzellen beendet, haben sich in der thorakalen Aorta fünf und in der abdominalen Aorta vier Zellagen angeordnet, die die Media bilden. Für die Dickenabnahme der Media nach caudal wird das allgemeine craniocaudale Entwicklungsgefälle verantwortlich gemacht (Gillman 1968). Im elektronenmikroskopischen Bereich beginnt die Differenzierung der embryonalen Mesenchymzelle zur Mediazelle mit dem Auftreten feiner, parallel angeordneter Filamente in einigen Gebieten des Cytoplasmas, von denen man annimmt, daß es sich um die ersten sichtbaren Vorstufen der Myofilamente handelt (Kadar, Gardner, Bush 1971). Diese Filamente treten in der weiteren Entwicklung immer mehr in Erscheinung, bis man schließlich von einer ausdifferenzierten glatten Muskelzelle sprechen kann (Schwarz 1959). Man weiß heute, daß das Auftreten zahlreicher parallel geordneter Filamente in der Mesodermzelle mit der Kontraktilität dieser Zellen nicht in zeitlichem Zusammenhang steht. Die Mesodermzellen sind schon zu Kontraktionen fähig, bevor sie sich zu typischen glatten Muskelzellen ausdifferenziert haben (v. Keyserlingk 1970). Die Anhäufung von Myofilamenten in den Mesodermzellen ist lediglich ein Zeichen dafür, daß diese Zellen ihren höchsten Differenzierungsgrad erreicht haben. In spä-

teren Wachstums- oder Regenerationsphasen können glatte Muskelzellen jederzeit ihre Myofilamente wieder verlieren und sehen dann aus wie Fibroblasten (Takebayashi 1972). Gewebekulturen von Schweineaorten (Fritz 1970) zeigten, daß nur die glatten Muskelzellen der Aortenwand eine H^3 -Thymidinmarkierung aufwiesen, die ihre Myofilamente verloren hatten. Demnach kann eine Proliferation glatter Muskelzellen nur über die Dedifferenzierung und anschließende Redifferenzierung der Zellen vor sich gehen. Die Tatsache, daß man bei Proliferationsvorgängen in der Gefäßwand hauptsächlich Zellen sah, die wie Fibroblasten aussahen, führte oft dazu, daß in der Wachstumsphase nomenklatorische Schwierigkeiten (glatte Muskelzelle-Bindegewebszelle) bestanden. So konnte z.B. durch elektronenmikroskopische Untersuchungen von Aortenhomotransplantaten (Takebayashi 1972) gesichert werden, daß die Neointima, die sich nach Gefäßtransplantationen ausbildet, nicht wie früher angenommen aus Bindegewebe besteht, sondern durch Proliferation glatter Muskelzellen gebildet wird. Ebenso sicher ist es, daß auch der Verschluß von Defekten der Arterienwand und die Atherosklerose durch Reaktionen der dedifferenzierten glatten Muskelzellen zustande kommen (Fritz 1970). Auch kleine Endotheldefekte werden nicht durch Proliferation der Endothelzellen, sondern durch Reaktionen der Mediazellen behoben (Cliff 1965). Mediazellen schieben sich in die entstandenen Endothellücken und schließen so den Endotheldefekt.

Die Media der Arterien ist also eine Zellschicht, die sich durch eine starke Modulationsfähigkeit (Muskelzelle-Fibroblast) und eine starke Proliferations-tendenz auszeichnet. Die Proliferations-tendenz wird nicht nur bei der Wiederherstellung von Gefäßwanddefekten sichtbar, sondern kann auch, wie die Zu-

sammenhänge zwischen Hypertonie und Atherosklerose beim Menschen zeigen, durch einen pathologisch erhöhten Blutdruck ausgelöst werden. Berücksichtigt man jetzt noch, daß der Hauptunterschied im Wandbau zwischen Arterien und Venen in der unterschiedlich starken Ausbildung der Media liegt, erscheint es sinnvoll, bei der Frage nach dem morphogenetischen Einfluß des Blutdrucks der Media besondere Beachtung zukommen zu lassen. Können erste Anzeichen für die Entstehung der Media und der Differenzierung der Mesodermzellen zu glatten Muskelzellen erst eine gewisse Zeit nach einem Druckanstieg im arteriellen System gesehen werden, darf man davon ausgehen, daß der Druckanstieg diese Vorgänge beeinflusst hat. Ist es dagegen nicht möglich, einen zeitlichen Zusammenhang zwischen Entstehung der Media und Blutdruckzunahme herzustellen, ist davon auszugehen, daß die Entwicklung der Media der Arterien einen genetisch vorbestimmten, nicht durch den Blutdruck zu beeinflussenden Verlauf nimmt.

Adventia:

Einige embryonale Mesodermzellen zeigen, nachdem sie sich um das Lumen des ursprünglichen Endothelschlauchs herum angeordnet haben, auch in Entwicklungsstadien, in denen schon ausdifferenzierte glatte Muskelzellen zu sehen sind, keine Anzeichen einer Myofibrillenbildung. Dagegen treten bei ihnen ein rauhes endoplasmatisches Retikulum und ein vergrößerter Golgiapparat in den Vordergrund, also Zeichen für beginnende Sekretionsaktivitäten, die bei glatten Muskelzellen nicht so stark ausgeprägt sind (Gillman 1968, Karrer 1960). Diese Zellen werden Fibroblasten und bilden mit ihrer Interzellulärsubstanz die Adventitia. Lichtmikroskopisch ist die Adventitia erst sicher zu erkennen, wenn die Entwicklung der Gefäßwand so weit

fortgeschritten ist, daß alle Zellagen geordnete Zellverbindungen erkennen lassen. Wie schon angeführt ist es schwer, anhand intrazellulärer Vorgänge in einer embryonalen Mesodermzelle feststellen zu wollen, ob aus dieser Zelle ein Fibroblast oder eine glatte Muskelzelle wird, da die Entwicklung zur glatten Muskelzelle über fibroblastenähnliche Zellstufen verläuft. Wenn aber die Ausrichtung der Zellagen um das Gefäßlumen herum abgeschlossen ist, ist es klar, daß die Zellen, die am weitesten vom Lumen entfernt liegen, Fibroblasten sind und die Adventitia bilden.

Da die Adventitia als äußerste Wandschicht der Gefäße nur in geringem Maß dem Blutdruck ausgesetzt ist, ist nicht zu erwarten, daß dieser Einfluß auf die Entwicklung der Adventitia nehmen kann.

Elastin:

Bei der Elastogenese spielen drei Differenzierungsstufen der beteiligten embryonalen Mesenchymzellen eine Rolle: die undifferenzierte Mesenchymzelle, die fibroblastenähnliche Zelle und die glatte Muskelzelle. Zeichen der zum Elastin führenden biochemischen Aktivitäten sind im elektronenmikroskopischen Bereich als Zunahme von Ribosomen und des endoplasmatischen Retikulums (rauhes ER) sowie einer Vergrößerung des Golgi-Apparats in der Zelle zu erkennen (Schwarz 1958, 1959, Gillman 1968). Schon zum Zeitpunkt der Ausrichtung der Mesodermzellen zu Zellagen um den Endothelschlauch herum finden sich im subendothelialen Spalt zahlreiche Bündel dünner Filamente, die man für Proelastin halten kann, und gelegentlich auch einige Kollagenfäden. Der Aggregationsort der im Cytoplasma gebildeten Vorstufen der Proelastinfibrillen ist noch nicht bekannt. Man kann nur annehmen, daß

sie direkt außerhalb der Mediazellen und außerhalb der Basis der Endothelzellen gebildet werden (Fyfe, Gillman, Oneson 1968). Erst wenn diese Zellen schon zur glatten Muskelzelle ausdifferenziert sind, findet man typische elastische Fasern. Dieses Material erscheint zuerst in den Extrazellulärspalten als Plaques submikroskopischer Größenordnung. Gelegentlich sieht man darin Bündel von feinen Filamenten, die gekreuzt übereinanderliegen und als elastische Filamente beschrieben worden sind (Kadar et al. 1971). Diese Filamente in den Plaques besitzen in Einzelheiten noch nicht genau bekannte Anziehungskräfte für das eigentliche elastische Material (Elastomucin) und sind deshalb für die Formation elastischer Aggregationen, vielleicht vergleichbar mit Kondensationskernen, von Bedeutung. Durch die starke Affinität der Mikrofibrillen und Plaques zu PTA (Phosphotungstic acid) lassen sich die einzelnen Stufen der Elastogenese elektronenmikroskopisch gut darstellen (Fyfe, Gillman, Oneson 1968): Versetzt man mit Osmium fixiertes Material mit PTA, erscheinen frisch entstandene Elastinanhäufungen als zentral amorphes Material, das von einem dichten Rand umgeben ist, in dem und um den herum elastische Filamente parallel oder als Netzwerk angeordnet sind. In der weiteren Entwicklung vereinigen sich die zunächst noch isoliert liegenden Elastinaggregationen und bilden schließlich langgestreckte elastische Fasern und Lamellen. Im gleichen Maß, in dem die Vereinigung der Elastinanhäufungen fortschreitet, nimmt ihre Affinität zu PTA ab. Schließlich erreicht die Elastogenese ein Plateau, an dem es zu keiner weiteren Elastinanhäufung mehr kommt (Fyfe, Gillman, Oneson 1968). Schwieriger ist es, den Beginn der Elastogenese genau festzulegen. Aus der Tatsache, daß zwischen der Differenzierung der Mesodermzelle zur glatten Muskelzelle und dem Auftreten elastischer Fasern ein zeitlicher Zusammenhang

besteht, läßt sich schließen, daß beide Vorgänge eine korrespondierende Folge der zunehmenden Syntheseleistung der ortsfestnagigen Zellen sind (Kadar 1971). Deshalb ist es verständlich, daß Elastin der allgemeinen Gefäßentwicklung entsprechend zuerst in der thorakalen Aorta gesehen wird, dann in der abdominalen und erst zuletzt in den peripheren Arterien (Fyfe, Gillman, Oneson 1968). Innerhalb der Gefäßwand erscheint es zuerst in der Nähe des Lumens und erst später in der Peripherie, was dazu führt, daß die Lamina elastica interna besser und früher entwickelt ist als die Lamina elastica externa. Ist Elastin in den peripheren Arterien zu finden, ist es auch in den Lungenalveolen und im Bronchialbaum nachweisbar. Beim Mäuseembryo z.B. vergehen nur drei Tage vom ersten Sichtbarwerden in der thorakalen Aorta am Tag 12 bis zum Nachweis in allen Körperabschnitten, in denen es auch nach der Geburt vorhanden ist (Fyfe, Gillman, Oneson 1968). Alle Beobachtungen über die Elastogenese sprechen dafür, daß der Blutdruck nicht der entscheidende Faktor für das Zustandekommen des Elastins in der Aorten- bzw. Arterienwand sein kann. Vielmehr wird der Beginn der Elastogenese dadurch bestimmt, daß gewisse Zellen einen Differenzierungsgrad erreicht haben, der sie zur Synthese von Elastinvorstufen befähigt. Eine Zeit danach (bei der Maus nach drei Tagen) setzen Elastinabbauvorgänge ein (Elastolyse), die das zu diesem Zeitpunkt vorhandene Elastinplateau halten, indem sie die über das Plateau hinausgehende Elastinbildung kompensieren (Gillman, Hathorn 1958, 1959). Das führt dazu, daß der Elastogenese innerhalb der Gesamtentwicklung des Embryos ein ganz bestimmter Zeitraum zugeordnet werden kann, wie das sonst nur bei genetisch angelegten Organentwicklungen der Fall ist. Da elastische Fasern immer in druckbeanspruchten Organen zu finden sind, liegt es nah, eine Beziehung zwischen Druck und Elastogenese herzustellen. Wie aber die Betrachtung von Lunge und Bronchialbaum

Während der Embryonalzeit zeigen, ist in diesen Organen schon Elastin nachweisbar, bevor sie überhaupt einer Druckbelastung ausgesetzt sind. In der Aorta allerdings herrscht schon ein Druck, bevor Elastin in der Aortenwand erscheint. Mit Hilfe experimentell gesetzter Aortenstenose konnte außerdem gezeigt werden, daß schnelle Wandspannungsänderungen zu einer Zunahme von Elastin in der Aortenwand führen (Rodbard 1973). Die Tatsache, daß überhaupt Elastin in der Aorten- und Arterienwand gebildet wird, ist, wie schon angeführt, sicher nicht mit Blutdruckeinflüssen erklärbar, sondern muß auf genetischen Anlagen beruhen. Es wäre aber möglich, daß die Menge des Elastins oder das Niveau des Plateaus durch den Blutdruck beeinflußt werden.

Kollagen:

Die schon beschriebenen Zusammenhänge zwischen Fibroblasten und glatten Muskelzellen, sowie zwischen Kollagen und Elastin im Interzellularraum machen verständlich, daß die Kollagenbildung ebenfalls in diesem Gebiet vor sich gehen muß. Von einem bestimmten Differenzierungsgrad an sind die Gefäßwandzellen in der Lage über biochemische Vorstufen (Prokollagen, Protokollagen) Tropokollagen zu synthetisieren. Außerhalb der Zellen lagern sich diese Tropokollagenmoleküle geordnet aneinander und bilden elektronenmikroskopisch fassbare Strukturen: Filamente, Fibrillen und schließlich durch Bündelung der Fibrillen auch lichtmikroskopisch sichtbare Kollagenfasern (Schwarz et al. 1962, Rapoport 1966). Diese sind in der Aortenwand des Mäuseembryos ab Tag 10 sichtbar (Fyfe, Gillman, Oneson 1968). Chemische Analysen der Aorten von Hühnerembryos zeigten eine Kollagenzunahme ab Tag 10, die bis zum Erreichen eines Plateaus um die Geburtszeit herum anhielt (Levene 1961). Wann die ersten Kollagenfasern in der Aortenwand des

Hühnerembryos gesehen werden können, wurde mit dieser chemischen Analyse jedoch nicht genau geklärt. Allgemein läßt sich feststellen, daß Retikulin und reifes Kollagen eher sichtbar werden als Elastin (Fyfe, Gillman, Oneson 1968), was dafür spricht, daß die Kollagenbildung eine relativ primitivere Syntheseleistung der Zelle ist als die Elastinbildung. Nach Gillman (1968) erscheint Kollagen im Gegensatz zu Elastin zuerst im Bereich der späteren Adventitia und erst zuletzt im Gebiet der Intima. Auffallend ist, daß Kollagen viel diffuser über das ganze Embryo verteilt ist als Elastin, wodurch noch deutlicher als schon bei der Elastogenese erkennbar wird, daß es sich bei der Kollagenentstehung um ein von Blutdruckeinflüssen primär unabhängiges geschehen handeln muß. Allerdings könnte die Menge des Kollagens und dessen Aggregationsmuster von Druckfaktoren abhängig sein. So konnte z.B. die Abhängigkeit der Dicke von kollagenen Fibrillen von der Belastung eindeutig nachgewiesen werden (Schwarz et al. 1958). Andererseits wurde beschrieben (Rodbard 1973), daß eine langsame Blutdruckerhöhung über längere Zeit einen Reiz zur Kollagenvermehrung in der Gefäßwand darstellt.

Nach diesen Überlegungen kommt offenbar bei der Frage nach dem morphogenetischen Einfluß des Blutdrucks der Entwicklung der Gefäßmedia die Hauptbedeutung zu. Die Elastogenese und die Kollagenentstehung müssen natürlich ebenfalls verfolgt werden, weil sich die Möglichkeit einer Beeinflussung der Menge und des Aggregationsmusters durch den Blutdruck ergeben könnte. Die Adventitia ist für die Fragestellung der Arbeit sicher von untergeordneter Bedeutung. Unberücksichtigt gelassen werden kann die Entstehung des Endothelschlauchs, weil diese mit Sicherheit ohne Blutdruckeinflüsse vor sich geht.

Bei Durchsicht der Literatur über Hinweise auf die Blutdruckverhältnisse bei Embryos konnten nur wenige Publikationen über diesen Bereich der "Embryonalphysiologie" gefunden werden. Die Druckwerte, die einigen Arbeiten der Jahre 1928 bis 1965 entnommen werden konnten, waren im Prinzip alle mit der Methode nach Landis (1926) ermittelt worden. Dabei wird der Blutdruck bestimmt, indem er mit einem Gegendruck, der gemessen werden kann, kompensiert wird. Der gemessene Kompensationsdruck wird dann dem zu bestimmenden Blutdruck gleichgesetzt. Der Nachteil dieser Methode ist, daß die Bestimmung von systolischen und diastolischen Druckwerten starken subjektiven Schwankungen unterworfen ist. Jeder Untersucher muß ermitteln, wann seiner Meinung nach die Blutsäule in der Funktionskapillare nicht mehr weiter in das System hineinläuft (diastolischer Druck) und wann sie beginnt aus der Kapillare in das punktierte Gefäß zurückzulaufen (systolischer Druck). Einige Autoren umgehen dieses Problem dadurch, daß sie einen Mitteldruck angeben, an dem die Blutsäule in der Kapillare pulsiert, sich in ihr aber nicht mehr verschiebt. Nach Paff (1965) beträgt der systolische Ventrikeldruck des Hühnerembryos am Tag 3 1,98 mmHg und steigt bis Tag 6 auf 5,44 mmHg an, wobei es zur größten Druckzunahme (62%) zwischen Tag 4 und Tag 5 kommt. Von Grabowski (1969) bestimmte Ventrikelmitteldruckwerte zeigen ebenfalls die höchste Druckzunahme zwischen Tag 4 und Tag 5 (55%). Der erste, der mit einem elektronischen Meßsystem den Blutdruck von Hühnerembryos bestimmte, war van Mierop (1967). Der Nachteil seiner Messungen besteht darin, daß sie an beliebigen Dottergefäßen und somit immer in der Peripherie des embryonalen Kreislaufs vorgenommen wurden und nicht direkt am Embryo. Das könnte die Ursache dafür sein, daß die von van Mierop gemessenen systolischen Druckwerte mit zunehmendem Alter des Embryos von den von Paff im Ventrikel gemessenen Werten immer weiter abweichen. Wäh-

rend die unterschiedlichen Meßergebnisse von van Mierop und Paff am Tag 3 von 1,25 mmHg bzw. 1,98 mmHg systolisch noch durch die unterschiedlichen Meßmethoden bedingt sein könnten, beruhen die großen Unterschiede am Tag 5 von 1,9 mmHg bzw. 4,63 mmHg sicher darauf, daß an völlig verschiedenen Punktionsstellen gemessen wurde. Der Druckverlauf in den ersten Tagen der Entwicklung des Hühnerembryos zeigt nach van Mierop zwischen Tag 4 und Tag 6 eine tägliche Druckzunahme von etwa 40% des jeweiligen Ausgangsdrucks, zwischen Tag 7 und 8 eine Zunahme von etwa 48% und dann bis zum Tag 18 eine relativ gleichmäßige Druckzunahme um 30% pro Tag. Das heißt also, daß das Maximum der Druckzunahme nicht wie von anderen Autoren (Paff, Grabowski) beschrieben zwischen Tag 4 und 5 liegt, sondern erst zwischen Tag 7 und 8 erreicht wird.

Es wäre nun sinnvoll, mit Hilfe eines elektronischen Meßsystems zu untersuchen, ob die stärkste Zunahme des systolischen Blutdrucks in den embryonalen Gefäßen wirklich zwischen dem vierten und fünften Entwicklungstag des Hühnerembryos stattfindet, wie es die Druckmessungen nach der Landis-Methode zeigten, oder ob die von van Mierop an Dottergefäßen ermittelten Druckwerte auch auf den zentralen Kreislauf des Embryos übertragen werden können.

Material und Methoden:

Zur Untersuchung wurden die Eier weißer Leghornhennen in einem Brutschrank bei $37,5^{\circ}\text{C}$ unter täglichem Wenden und Befeuchten bebrütet. Die Bestimmung des Alters der Hühnerembryos erfolgte durch Abziehen von 3 Stunden von der Zeit des Einlegens der Eier in den Brutschrank bis zu deren Herausnahme, da es nach Beobachtungen von Patten (1927) etwa drei Stunden dauert, bis der einmal unterbrochene Bebrütungsvorgang wieder aufgenommen wird.

Lichtmikroskopie:

Für die Herstellung der lichtmikroskopischen Präparate fixierten wir die Embryos in Bouin'scher Lösung und betteten sie in Paraplast ein. Bis zum Tag 9 erfolgte die Einbettung der Embryonen im Ganzen. Es wurden Serienschritte in Längs- und Querrichtung in einer Dicke von 5μ angefertigt. Ab Tag 10 konnte wegen der Größe der Embryos nur noch der thorakale Teil eingebettet und in Querrichtung geschnitten werden. Es schloß sich die Färbung der Präparate mit HE-, PAS-, Azan- und Elastikafarbstoffen (Orcein) an.

Autoradiographie:

Zur Markierung der Embryos wurden 24 Stunden vor Erreichen des vorgesehenen Alters je $50\mu\text{C}$ H^3 -Thymidin, H^3 -Leucin oder S^{35} durch die Eischale hindurch mit einer Spritze in das Ei gegeben. Zum Termin nahmen wir die Embryos heraus und fixierten sie in Formol. Die Einbettung in Paraplast erfolgte ebenso wie für die Lichtmikroskopie bis Tag 9 in toto und ab Tag 10 wurde nur noch der thorakale Teil eingebettet. Die 5μ dicken Serienschritte in Querrichtung wurden mit HE angefärbt. Das Aufbringen der Photoemulsion auf die Objektträger erfolgte mit der Dipping-Methode. Dazu verwendeten wir eine im Verhältnis 1:1 mit Aqua dest. verdünnte Ilford K-5 Emulsion. Anschließend wurden die befilm-

ten Präparate in einem Kühlschrank bei $+4^{\circ}\text{C}$ in einer lichtundurchlässigen Box gelagert. Nach einer Expositionszeit von 10 bis 14 Tagen, je nach Ausfall der Kontrollentwicklung, wurden die Präparate herausgenommen, in Amidol entwickelt, gewässert, fixiert und nachgewässert.

Elektronenmikroskopie:

Die für die Elektronenmikroskopie bestimmten Embryos wurden in einer modifizierten Karnowsky-Lösung (3% destilliertes Glutaraldehyd, 3% Paraformaldehyd in 0,1M Cacodylatpuffer) fixiert. Nach mehrmaligem Waschen in physiologischer Kochsalzlösung erfolgte die Nachfixierung der Präparate in gepuffertem Osmiumtetroxyd (0,1 M Cacodylatpuffer pH 7,2). Nach stufenweiser Entwässerung in einer Acetonreihe betteten wir die Objekte in Mikropal ein. Wegen der Größe der Embryos wurde ab Tag 5 nur noch der thorakale Teil eingebettet. Zur lichtmikroskopischen Orientierung fertigten wir von den eingebetteten Objekten Semidickschnitte (1μ dick) an und färbten sie mit alkalischer Giemsa-Lösung. Dann wurden die Präparate angespitzt und mit einem LKB-Ultramikrotom die Dünnschnitte für die Elektronenmikroskopie (etwa $500 \overset{\circ}{\text{Å}}$ dick) hergestellt. Nach Kontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitrat machten wir an einem Siemens Elmiskop Typ I bei einer Primärvergrößerung von 1000 bis 36000 die elektronenmikroskopischen Aufnahmen. Zur Auswertung wurden Positivabzüge in dreieinhalbfacher Vergrößerung herangezogen.

Blutdruckmessungen:

Für die Druckmessungen überführten wir die Embryos aus dem Ei in eine Petrischale. Dazu wurde das Ei am Eipol durchstoßen und ein Teil des Eiweisses abgelassen. Dann wurde das Oberteil des Eies vorsichtig in Längsrichtung

aufgeschnitten und der Inhalt mit dem auf der Oberfläche schwimmenden Embryo so in die Petrischale gekippt, daß das Embryo dort ebenfalls wieder mit seinen Dottergefäßen auf dem Einnhalt schwamm. Zum Aufrechterhalten der Bebrütungstemperatur befestigten wir unter der Petrischale in einem Abstand, in dem die Schale auf etwa 37°C erwärmt wurde, eine Lampe. Als Parameter für den Zustand des Embryos in der Petrischale dienten Veränderungen der Herzfrequenz während der Manipulationen. Fielen die Werte unter die in der Literatur beschriebenen Frequenzen (Paff, Grabowski, van Mierop, Patten) ab, wurde das Meßergebnis verworfen.

Zum Punktieren des linken Ventrikels wurden 30-150µ dicke heparinisierte (5% Heparin) Glaskapillaren benutzt, die von drei Seiten spitz (20°) angeschliffen wurden, um Gewebsverletzungen und damit Blutaustritt aus dem Ventrikel möglichst zu verhindern. Punktiert wurde der linke Ventrikel des Embryos, weil er am besten zugänglich ist und die systolischen Druckwerte denen in der Aorta entsprechen. Die Druckaufnahme erfolgte mit einem Stat-ham P-23V Transducer (Volumenverschiebung 0,04 mm³ bei 100 mmHg), der über einen starren Polyäthylenschlauch mit der Aufnahme für die Glaskapillaren (Zubehör für Leitz-Mikromanipulator) verbunden war. Gefüllt war das ganze System mit physiologischer Kochsalzlösung, die durch erwärmen entgast worden war. Durch Heben oder Senken der im Mikromanipulator befestigten Glaskapillare glichen wir das ganze druckaufnehmende System (Glaskapillare, Schlauch, Transducer so ab, daß die Druckdifferenz gegenüber dem Luftdruck gleich null war. Dann wurde der Mikromanipulator festgestellt und während der Druckmessungen nicht mehr bewegt. Stattdessen konnte die Petrischale, in der das Embryo schwamm, horizontal und vertikal bewegt werden. Durch den spitzen Anschlag der Glaskapillaren war der Gewebswiderstand beim Einstechen so gering, daß die

schwimmenden Embryos ohne große Mühe und ohne zusätzliches Festhalten punktiert werden konnten. Das elektronische Meßsystem zur Aufzeichnung der Druckverläufe bestand aus einem Statham SP-1400 Monitor als Vorverstärker an den der Transducer angeschlossen war und einem Rikadenki B-44S Multipen-Schreiber, der über einen Schreiberausgang des Monitors seine Impulse bekam. Da die limitierenden Faktoren für das Frequenz- und Dämpfungsverhalten des Gesamtsystems die Länge und der Durchmesser der jeweils verwendeten Glaskapillare waren, wurde bei jedem Kapillarenwechsel die Eigenfrequenz und die Dämpfung des Gesamtsystems bestimmt. Dazu zogen wir über die Überwurfmutter der Kapillarhalterung einen Polyäthylenschlauch und dichteten ihn mit Klobstoff ab. Am anderen Ende des Schlauches wurde ein Dreiwegehahn befestigt, dessen einer Anschluß mit einem Druckeichgerät (Fa. Hugo Sachs Elektronik) verbunden war und dessen anderer Anschluß frei blieb. Zur Bestimmung der Eigenfrequenz und der Dämpfung des Systems brachten wir dieses mit Hilfe des Druckeichgerätes durch einen Drucksprung zum Schwingen. Der Schwingungsverlauf wurde bei maximaler Papiergeschwindigkeit (1000 mm/min) aufgezeichnet und aus der Anzahl der Schwingungen die Eigenfrequenz des gesamten Systems ermittelt. Betrug die Eigenfrequenz wenigstens das Dreifache der Herzfrequenz der Embryos, konnte man davon ausgehen, daß die Grundschwingungen des Druckverlaufs in etwa amplitudengetreu aufgezeichnet wurden. Dann wurde das Druckeichgerät auf den bei den Messungen zu erwartenden Höchstdruck eingestellt. Durch Öffnen des Dreiwegehahns in Richtung Meßsystem wurde dieser Druck auf das Meßsystem gegeben und durch Öffnen des Hahns zum freien Anschluß hin wieder aus dem System abgelassen. Dabei stellten wir die Dämpfung des Rikadenki-Schreibers so ein, daß diese beiden Drucksprünge vom Schreiber ohne Überspringen oder Kriechen als saubere Rechteckkurve registriert wurden.

Befunde

Lichtmikroskopie:

Am Tag 3 besteht die thorakale Aorta nur aus einem Endothelschlauch, der von typischen langgestreckten Endothelzellen gebildet wird. Diesem Endothelschlauch liegen vereinzelt embryonale Mesenchymzellen an, die weder eine Ausrichtung um das Gefäßlumen noch eine Anhäufung im Gefäßwandbereich erkennen lassen.

Am Tag 4 sind von den Myotomen ausgehende Zellstraßen sichtbar, die teilweise schon die dorsolateralen Abschnitte der Aorta erreicht haben. Solche Zellstraßen, d.h. Abschnitte mit dichter gepackten Zellen, sollen Ausdruck der Emigration von Mesenchymzellen aus der Somitengegend sein. Im Bereich der Gefäßwand, wo diese Zellstraßen an die Aorta heranreichen, liegen Gruppen bis zu fünf Mesenchymzellen dem Endothel direkt an, während im ventralen Gefäßbereich gegenüber dem Tag 3 keine Veränderungen zu sehen sind.

Am Tag 5 sind die lateralen Zellstraßen nicht mehr sichtbar. Lediglich im dorsalen Bereich der Gefäßwand liegen noch vermehrt Mesenchymzellen in der Umgebung. Die Media besteht jetzt im gesamten Wandbereich aus mindestens einer Zellschicht und im dorsolateralen Gefäßabschnitt sogar schon aus zwei bis drei Schichten. In der Azanfärbung sind im subendothelialen Spalt einige blaue Streifen zu sehen. Dieses muß als erster Hinweis auf eine Synthese von Kollagenvorstufen angesehen werden.

Am Tag 6 wird die Media aus drei circumferentiell angeordneten Schichten gebildet. Im dorsalen Teil der Gefäßwand sind jetzt sogar schon alle fünf Schichten ausgebildet. Die Mediazellen sehen jetzt auch nicht mehr wie normale embryonale Mesenchymzellen aus. Ein dunkleres Cytoplasma und eine ovale Form weisen auf Differenzierungsvorgänge zur glatten

Muskelzelle hin. Im Bereich der späteren Adventitia liegen in größerem Abstand voneinander um die Media herum Zellen in zwei bis drei Lagen, die eine noch länger gestreckte Form haben als die Mediazellen und lange dünne Cytoplasmaausläufer zu besitzen scheinen. Zwischen den Zellagen der Media sind im Azanbild kurze Streifen von Kollagenvorstufen zu sehen, die aber noch nicht untereinander verbunden sind. Im Bereich der späteren Adventitia fehlen diese Kollagenvorstufen noch.

Am Tag 7 sind alle fünf Zellagen der Media kontinuierlich circular angelegt und zwischen allen Lagen ist deutlich Bindegewebe zu erkennen. Auch die Adventitia ist jetzt fast fertig ausgebildet. Lediglich im ventralen Wandbereich sind noch einige Zellücken zu sehen. Blaufärbung um die Cytoplasmaausläufer der Adventitiazellen herum (Azanfärbung) zeigen, daß jetzt auch in diesem Bereich Kollagen gebildet wird. Die Entwicklung der Gefäßwandstruktur ist am Tag 7 somit annähernd abgeschlossen. Noch nicht beendet sind lediglich die intrazellulären Differenzierungsvorgänge zu ausgereiften glatten Muskelzellen und Fibroblasten. Außerdem fehlen lichtmikroskopisch noch alle Anzeichen für den Beginn der Elastogenese.

Am Tag 8 kommt es zu einer Bindegewebsumformung in allen Wandabschnitten, wobei die Bindegewebsumformung vom Lumen aus zur Peripherie hin zu verlaufen scheint, da in Lumennähe immer das meiste Bindegewebe zu finden ist. Die Differenzierung der Mediazellen zu glatten Muskelzellen ist weiter fortgeschritten. Zwischen den Mediazellen verlaufen die faßbaren Bindegewebsstrukturen angedeutet wellenförmig. Die Kerne der Zellen sind noch auffallend groß und Myofilamente sind nicht zu sehen.

Am Tag 10 sind in der Elastikafärbung zwischen den

mittleren Lagen der Mediazellen vereinzelte kurze Elastinstücke zu sehen.

Am Tag 12 ist zwischen allen Schichten der Media Elastin zu sehen. Die größte Elastinmenge findet sich immer zwischen den mittleren Zellagen der Media, während sie zur Peripherie und zum Lumen hin abnimmt.

Am Tag 14 hat die Elastinmenge noch weiter zugenommen und die Elastinschichten wirken jetzt nicht mehr so locker aufgefaserter, sondern scheinen sich verdichtet zu haben. Auffallend ist die starke Zunahme des wellenförmigen Verlaufs der Elastinschichten zwischen Tag 10 und Tag 14, was auf eine Zunahme der Wandelastizität der Aorta schließen könnte. Zahlreiche Mitosen im Bereich der Media scheinen Ausdruck einer vermehrten Wachstumsaktivität zu sein. Die Menge des Bindegewebes im Bereich der Adventitia hat so stark zugenommen, daß hier jetzt sehr viel mehr Bindegewebe vorhanden ist als in der Nähe des Lumens.

Am Tag 16 hat sich das Bild der Gefäßwand kaum noch verändert. Die Wand ist lediglich dicker und dichter geworden. Die Elastinmenge hat noch etwas zugenommen, vor allem in den Bereichen, in denen sie vorher noch recht gering war wie im subendothelialen Spalt und zur Adventitia hin. Das hat zur Folge, daß Elastin jetzt zwischen allen Lagen der Media in etwa gleicher Menge zu liegen scheint.

Man kann sagen, daß eine qualitative Veränderung der Bestandteile der Aortenwand im weiteren Verlauf der Entwicklung nicht mehr möglich ist, sondern daß es nach Tag 16 nur noch zu quantitativen Veränderungen kommen kann.

Autoradiographie:

H_3 -Thymidineinbau: An allen Tagen zwischen Tag 3 und Tag 12 fällt der hohe Prozentsatz markierter Blutzellen auf, was

für die starke Proliferationstendenz dieser Zellpopulation auch im strömenden Blut spricht. Im Bereich der Aorta und ihrer Umgebung sind zwischen Tag 3 und Tag 5 relativ wenig markierte Zellen zu finden. Von Tag 6 bis Tag 12 erhöht sich die Zahl markierter Zellen in der Aortenwand dann ständig. Dabei fällt auf, daß der größere Anteil markierter Zellen immer im dorsalen Wandbereich liegt. Das dorso-ventrale Reifungsgefälle innerhalb der Aortenwand wird somit auch im Autoradiogramm bestätigt.

Ein Vergleich des Proliferationsverhaltens der Wandzellen während der Aortenentwicklung des Hühnerembryos mit Hilfe von Markierungsindices ist aus folgenden Gründen nicht zuverlässig: Während die biologische Verfügbarkeit des H_3 -Thymidin bei Ratte und Maus hinreichend genau bekannt ist (Schultze 1967) liegen über die Inaktivierung des H_3 -Thymidin im Hühnerembryo keine genauen Angaben vor. Da wir H_3 -Thymidin außerdem in den Dotter des Eies spritzten und nicht in die Gefäße des Embryos, ist anzunehmen, daß die Resorption von dem jeweiligen Ernährungsbedarfs des Embryos beeinflusst wird. Eine Pulsmarkierung unter konstanten Bedingungen, wie sie für Vergleiche von Markierungsindices gefordert werden muß, ist somit in diesem Fall nicht gewährleistet.

H_3 -Leucineinbau: Zwischen Tag 3 und Tag 4 scheint der Proteinstoffwechsel im Bereich der thorakalen Aorta nicht besonders ausgeprägt zu sein. Lediglich in den Blutzellen zeigt sich ein verstärkter H_3 -Leucineinbau. Ab Tag 6 und angedeutet auch schon ab Tag 5 zeichnet sich um das Endothel herum eine Markierungszone ab. Von Tag 6 bis Tag 9 wird dieser Markierungsring ständig größer und verlagert sich immer mehr in die Peripherie. Am Tag 9 liegt die Markierung über der Adventitia, während das Endothel und die Media kaum markiert sind. Am Tag 10 und noch deutlicher am Tag 12 treten dann in

der vorher unmarkierten Media erneut Markierungsgebiete auf. Diese Markierungsgebiete bestehen aus kurzen faserförmigen Aktivitätszonen, die sich zwischen den lumennahen Zellagen der Media ausbilden und im weiteren Verlauf zwischen allen Mediaschichten zu finden sind. Es muß sich bei diesen Markierungsgebieten um H_3 -Leucineinbau im Rahmen der Elastogenese handeln, während die Markierung bis zum Tag 9 den Verlauf der Kollagenbildung darstellt.

S_{35} -Einbau: Während der Entwicklung der Aorta von Tag 3 bis Tag 12 läßt sich zu keinem Zeitpunkt eine sichere Aussage über den Einbau von S_{35} in die Aortenwand machen. Von Tag 3 bis Tag 5 ist das die Aorta umgebende Mesenchym sehr stark markiert. Über der Aortenwand findet man zwar ebenfalls Markierung, aber da S_{35} ein relativ starker Strahler im Vergleich zu Tritium ist (0,167 MeV) und die Autoradiogramme deshalb eine schlechtere Auflösung haben, läßt sich nicht sicher sagen, ob die Markierung durch S_{35} -Einbau in die Aorta oder durch Streustrahlung der Umgebung zustande kommt. Es läßt sich nur sicher feststellen, daß die Aorta zwischen Tag 3 und Tag 5 nicht stärker markiert ist als das sie umgebende Mesenchym. Ab Tag 6 und in den folgenden Tagen ist das Gebiet der Chorda dorsalis so extrem stark markiert, daß zu der möglichen Streustrahlung durch das in das Mesenchym eingebaute S_{35} die Aorta noch durch Streustrahlung aus dem Chordabereich überdeckt wird. So bleibt nur die Aussage, daß während der Aortenwandentwicklung zwischen Tag 3 und Tag 12 immer über der Aorta genauso starke Markierung wie in ihrer näheren Umgebung zu finden ist und daß es zu keinem Zeitpunkt zur Markierung der Aorta ohne gleichzeitige Markierung der Umgebung kommt.

Elektronenmikroskopie:

Am Tag 3 besteht die Aortenwand nur aus einem Endothel-

Schlauch aus typischen flachen Endothelzellen. Diese Zellen besitzen lediglich im Bereich des Kerns eine gewisse Anhäufung von Zellorganellen. Man findet kleine runde bis ovale christaearme Mitochondrien, kurze Hohlräume des endoplasmatischen Retikulums mit und ohne Ribosomenbesatz und einen kleinen Golgiapparat. In den flachen Zellausläufern und in einiger Entfernung vom Kern überwiegen freie Ribosomen, die in Polysomenform angeordnet sind. Daneben lassen sich vereinzelte Vesikel ($500 - 1000 \text{ \AA}$) und Granulae (bis zu $2000 \text{ \AA}$) nachweisen. Bereits zu diesem Zeitpunkt zeigen die Endothelzellen ein deutliches Adhäsionsverhalten untereinander. An den Kontaktstellen lassen sich sowohl zonulae occludentes ("tight junctions") als auch "gap junctions" nachweisen. Vereinzelt liegen dem Endothelschlauch plumpe embryonale Mesenchymzellen an, die durch ihren großen polymorphen, teils runden teils ovalen teils gelappten Kern auffallen. Ihr Cytoplasma ist reicher an Organellen, besonders an Mitochondrien und Hohlräumen des rauen endoplasmatischen Retikulums, als das der Endothelzellen. Wie in allen diesen undifferenzierten heftig proliferierenden Zellen kommen zahlreiche freie Ribosomen in Polysomenform vor. In den freien Räumen zwischen den Zellen ist noch keine sicher elektronenmikroskopisch fassbare Interzellularsubstanz zu finden.

Die Aortenwandentwicklung der nächsten Tage wird, abgesehen von der schon bei den lichtmikroskopischen Befunden beschriebenen Anordnung der Mesenchymzellen zu circulären Zellagen, hauptsächlich durch die Zunahme von Zellorganellen im Cytoplasma der Wandzellen bestimmt. Immer dann, wenn eine embryonale Mesenchymzelle eine Zuordnung zur Aortenwand erkennen läßt, scheint sie mehr Mitochondrien, einen größeren Golgi-Apparat und mehr rauhes ER zu bilden und daraus ablesbar mehr biochemische Aktivitäten zu entwickeln.

Am Tag 6 haben diese morphologisch fassbaren biochemischen Aktivitäten ein hohes Niveau erreicht. Alle die Gefäßwand bildenden Zellen, abgesehen von den Endothelzellen, zeigen in ihrem Cytoplasma zahlreiche runde bis ovale Mitochondrien, in denen sich dicht gepackte Cristae befinden. Reichlich rauhes ER liegt über das Cytoplasma verteilt. Weiter findet man viele freie Ribosomen, meist in Form von Polysomengruppen, und zahlreiche Vesikel.

Am Tag 5 sind in den lumennahen Interzellularräumen deutlich Kollagenstrukturen zu sehen. Zunächst kommen einzelne oder bereits zu mehreren parallel verlaufende Filamente vor, die etwa 150 - 200 Å dick sind und noch keine Querstreifung zeigen. Diese Filamente werden dicker und das Ausmass der Bündelung nimmt zu. Die kollagenen Strukturen, die über 200 Å dick sind und jetzt als Fibrillen bezeichnet werden, weisen eine andeutungsweise Querstreifung auf, die mit zunehmender Dicke immer ausgeprägter wird. Die Proteoglykane entziehen sich der Darstellung, da die dafür notwendigen Spezialfärbung hier nicht angewandt wurden. Sie werden in den folgenden Beschreibung deshalb nicht erwähnt.

Ab Tag 6 sind kollagene Fibrillen auch in den weiten Interzellularräumen der Adventitia vorhanden. Bei stärkerer Vergrößerung sieht man außerdem erste Anzeichen eines Vorkommens von Myofibrillen. Diese Myofibrillen (40 - 60 Å dick) liegen als nicht sehr dicht gepackte Bündel parallel zum Gefäßlumen ausgerichtet in der Nähe des Zellkerns. Auffallend ist, daß die Myofibrillen nur auf der dem Gefäßlumen zugewandten Seite des Cytoplasmas der Mediazellen zu finden sind. Das Gefäßendothel hat ab Tag 6 nicht mehr das typische flach ausgestreckte Aussehen, sondern die Einzelzellen ragen plump in das Gefäßlumen hinein.

Während der nächsten beiden Tage wird die weitere Entwicklung der Gefäßwand hauptsächlich durch Veränderungen in den Interzellularräumen geprägt. Schon in der Übersichtsvergrößerung wirken die Interzellularräume (ICR) elektronenoptisch dichter. Bei stärkerer Vergrößerung erkennt man, daß am Tag 7 diese Verdichtung nicht so sehr auf einer Zunahme der Interzellularsubstanz beruht, sondern in erster Linie durch Einengung des ICR zustande kommt. Die Wandzellen sind dichter zusammengedrückt und engen dadurch den ICR ein. Eine Zunahme kollagener Strukturen gegenüber dem Vortag kann lediglich im Bereich der lateralen Media und der Adventitia beobachtet werden. Die morphologisch fassbaren biochemischen Aktivitäten (rauhes ER, viele dichtgepackte Mitochondrien, viele freie Ribosomen) der Mediazellen sind am Tag 7 und Tag 8 unvermindert sichtbar. Die Myofilamentbündel oder Myofibrillen werden dadurch, daß sie an Zahl zunehmen und dichter gepackt beieinanderliegen, immer deutlicher sichtbar. Sie sind aber weiterhin nur auf der lumennahen Seite des Cytoplasmas der Mediazellen vorhanden.

Die elektronenoptische Verdichtung des ICR am Tag 8 ist in erster Linie auf das erste Auftreten von Elastinstrukturen zwischen den lumennahen Zellschichten zurückzuführen. Im subendothelialen Spalt und den lumennahen Interzellularräumen der Mediazellen befinden sich zahlreiche nicht scharf begrenzte Elastininseln, die zum Teil schon zu größeren Einheiten zusammengetreten sind. Im Zentrum dieser Inseln findet man elektronendichte Gebiete, während die Ränder eine faserig aufgelockerte Struktur besitzen. Besonders im subendothelialen Spalt befinden sich außerdem schon typische, zum Teil gebündelte Elastinfasern.

Am Tag 10 treten die auf biochemische Aktivitäten hinweisenden Zellorganellen im Cytoplasma der Mediazellen etwas in den Hintergrund. Das Bild wird jetzt von der

starken Zunahme der Myofibrillen im Cytoplasma beherrscht. Myofibrillen sind jetzt bis in die Spitze der Cytoplasmaausläufer hinein nachzuweisen. Die vom Lumen abgewandte Seite des Cytoplasmas der Mediazellen ist aber nach wie vor frei von Zeichen einer Myofibrillenbildung.

Die Menge des Elastins zwischen den Schichten der Mediazellen hat weiter zugenommen. Auch die Interzellularräume der Mediazellen in Adventitianähe zeigen Hinweise auf den Beginn der Elastogenese. In den lumennahen Bereichen überwiegen jetzt die Elastinfasern, während in der Peripherie noch zahlreiche Elastininseln vorkommen.

Am Tag 12 hat die Elastinmenge zwischen allen Mediaschichten weiter zugenommen. Qualitativ ist zwischen Tag 10 und Tag 12 jedoch keine Veränderung in der Aortenwand erkennbar.

Druckmessungen:

Um auswertbare Meßergebnisse zu erhalten, wurden an jedem Tag der Ventrikeldruck an 5 Hühnerembryonen bestimmt. Diese Anzahl reichte aus, da die einzelnen Meßergebnisse eine relativ geringe Streuung voneinander aufwiesen. Lediglich an den beiden Tagen, an denen von anderen Autoren starke Druckänderungen gegenüber dem Vortag beschrieben wurden, nämlich am Tag 6 und Tag 7, wurden zur Sicherheit mehr Messungen vorgenommen. Während der Messungen zeigte sich, daß die Technik der Druckmessungen in der Petrischale bei Hühnerembryos von Tag 8 ihre Grenzen hat. Da ab Tag 8 die Dottergefäße relativ fest an der Eischale kleben, kam es beim Überführen des Embryos in die Petrischale teilweise zu Blutungen aus den Dottergefäßen, so daß ein Teil der Meßergebnisse nicht verwertet werden konnte. Bei Meßversuchen an Hühnerembryos von Tag 9 und 10 kamen zu diesen Blutungen noch deutliche Abwehrbewegungen der Embryos beim Punktieren des Ventrikels dazu, die Messungen unter auch nur annähernd physiologischen Bedingungen unmöglich machten.

Ergebnisse der Blutdruckmessungen:

Tag 3

	Herzfrequenz	syst.Druck	diast.Druck	Eigenfrequ. des Systems	Kap.- Durch.
Nr.1	100	1,04 mm Hg	0,90 mm Hg	11,6 Hz	35my
Nr.2	98	0,98 "	0,90 "	"	"
Nr.3	110	1,00 "	0,92 "	"	"
Nr.4	88	0,97 "	0,89 "	"	"
Nr.5	95	0,99 "	0,90 "	"	"
Mittelwerte	98	1,00 "	0,90 "		

Tag 4

Nr.1	115	1,05 mm Hg	0,92 mm Hg	11,6 Hz	35my
Nr.2	130	1,35 "	0,95 "	"	"
Nr.3	113	1,24 "	0,90 "	"	40my
Nr.4	105	1,02 "	0,90 "	"	"
Nr.5	125	1,28 "	0,97 "	"	"
Mittelwerte	118	1,19 "	0,93 "		

Tag 5

Nr.1	135	1,35 mm Hg	1,02 mm Hg	18,17 Hz	90my
Nr.2	130	1,45 "	1,00 "	"	"
Nr.3	138	1,32 "	1,02 "	"	"
Nr.4	134	1,40 "	1,01 "	"	"
Nr.5	130	1,34 "	1,02 "	"	"
Mittelwerte	133	1,37 "	1,01 "		

Tag 6

	Herzfrequenz	syst.Druck	diast.Druck	Eigenfrequ. des Systems	Kap.- Durchm.
Nr.1	170	1,5 mm Hg	0,4 mm Hg	18,35 Hz	120my
Nr.2	140	1,5 "	0,42"	"	"
Nr.3	170	1,45"	0,8 "	"	"
Nr.4	145	1,35"	0,5 "	"	"
Nr.5	150	1,3 "	0,5 "	"	"
Nr.6	160	1,35"	0,7 "	"	"
Nr.7	170	1,36"	0,4 "	"	"
Nr.8	120	1,4 "	0,5 "	"	"
Nr.9	135	1,52"	0,4 "	"	"
Nr.10	85	1,25	0,7 "	"	"
Mittelwerte	144	1,4 "	0,5 "		

Tag 7

Nr.1	130	2,42mm Hg	0,2 mm Hg	18,35 Hz	120my
Nr.2	128	2,15"	0,00"	"	"
Nr.3	130	2,9 "	0,2 "	"	"
Nr.4	135	2,35"	0,00"	18,75 Hz	125my
Nr.5	150	2,5 "	0,00"	"	"
Nr.6	132	2,32"	0,1 "	"	"
Nr.7	152	2,25"	0,00"	"	"
Nr.8	146	2,18"	0,00"	"	"
Mittelwerte	138	2,38"	0,09"		

Tag 8

Nr.1	160	5,51mm Hg	0,00mm Hg	"	"
Nr.2	145	3,95"	"	"	"
Nr.3	150	5,18"	"	"	"
Nr.4	138	3,84"	"	"	"
Nr.5	160	4,34"	"	"	"
Mittelwerte	150	4,56"	"		

Der Verlauf der systolischen Druckkurve zeigt, daß es zwischen Tag 5 und Tag 6 nur zu einer relativ geringen Druckzunahme von insgesamt 40% kommt (von 1,0 mm Hg am Tag 5 auf 1,4 mm Hg am Tag 6). Von Tag 6 bis Tag 7 steigt der systolische Druck um 70% (von 1,4 mm Hg auf 2,38 mm Hg) und zwischen Tag 7 und Tag 8 noch einmal um fast 92% von 2,38 mm Hg auf 4,56 mm Hg. Wenn die einzelnen systolischen Druckwerte auch alle etwas unter den von van Nierop (1967) an Dottergefäßen ermittelten Werten liegen, kann man doch sagen, daß beide Druckkurven in ihrem Trend übereinstimmen. Die von Paff nicht mit einem elektronischen Meßsystem, sondern mit der Met ode nach Landis bestimmten systolischen Ventrikeldruckkurve zeigt dagegen doch einen anderen Verlauf. Betrachtet man die Veränderungen der Herzfrequenz an den einzelnen Tagen fällt auf, daß zwischen Tag 6 und Tag 8, also an den Tagen, an denen es zu starken Druckänderungen kommt, die Herzfrequenz annähernd gleich bleibt, was vermuten läßt, daß der erhöhte Druck nicht in erster Linie durch ein erhöhtes Minutenvolumen zustande kommt, sondern durch andere Regelmechanismen.

Der Verlauf der diastolischen Ventrikeldruckkurve stimmt annähernd mit den von Paff gemessenen Werten überein. Zwischen Tag 5 und 6 beginnt der diastolische Ventrikeldruck abzunehmen und ist am Tag 7 annähernd auf 0 mm Hg abgesunken. Ursache dieses Druckverlaufs ist nach Paff (1965) die in den ersten Tagen noch unzureichende Entwicklung der Herzklappen. Ab Tag 6 beginnen die Klappen den Rückstrom von Blut in den Ventrikel während der Diastole aufzuhalten und am Tag 7 schließen die Klappen so dicht, daß der diastolische Ventrikeldruck gegen 0 mm Hg geht. Die Druckmessungen zeigen, daß erst nach dem Tag 6 der Entwicklung in den Arterien ein Druck herrscht, von dem morphogenetische Einflüsse ausgehen könnten. Bis zum Tag 6 sind die Unterschiede zwischen venösem und arteriellem Druck so gering und die tägliche Druckzunahme so klein, daß ein Blutdruckeinfluß auf die Differenzierung zu Arterien und Venen in Frage gestellt werden muß.

Diskussion:

Faßt man alle morphologischen Befunde zusammen, läßt sich der jeweilige Zeitpunkt der einzelnen Entwicklungsschritte, die schließlich zur fertigen Aortenwand führen, recht genau festlegen. Erster sichtbarer Entwicklungsschritt ist am Tag 4 das Auftreten von Zellstraßen zwischen den Myotomen und der Aorta. Da die Zellen, die diese Zellstraßen bilden, von normalen embryonalen Mesenchymzellen nicht unterschieden werden können, kann man nicht sagen, auf welche Weise die Myotome an der Entwicklung der Gefäßwand beteiligt sind. Einerseits wäre es möglich, daß spezifische Zellen der Myotome zur Aorta wandern und dort die Media bilden, andererseits könnten von den Myotomen induzierende Eigenschaften ausgehen, die embryonale Mesenchymzellen zur Anordnung um das Endothelrohr der Aorta veranlassen. Da der Somit für viele Bindegewebsstrukturen dieser Gegend die Zellen liefert, ist eine Herkunft aus diesem Bereich durchaus wahrscheinlich. Auf jeden Fall muß auch das Endothelrohr in irgendeiner Weise Anziehungskräfte für diese Zellen besitzen, denn anders wäre es kaum zu erklären, daß sich zwischen Tag 3 und Tag 6 an das Endothelrohr der Aorta sehr viel mehr Zellen anlagern als an die in der Nähe liegende Vene. Ab Tag 5 gibt es sichere Hinweise auf den Beginn der Kollagensynthese. In der Azanfärbung erscheint Kollagen in Form kurzer blauer Streifen im subendothelialen Spalt, die Autoradiographie mit H^3 -Leucin zeigt eine das Endothelrohr umgebende Markierungszone und im Elektronenmikroskop sieht man zur gleichen Zeit eine Differenzierung der Zellen (Auftreten von rauhem ER) und das Auftreten von Kollagenfibrillen im subendothelialen Spalt. Während der weiteren Entwicklung dehnt sich die Zone der Kollagenbildung zur Peripherie hin aus und erreicht zwischen Tag 6 und Tag 7 das Gebiet der Adventitia. Am besten läßt sich die Wanderung der Kollagensynthese innerhalb der Gefäßwand mit Hilfe der H^3 -Leucinmarkierung verfolgen. Der am Tag 5

sichtbare Kollagenring deutet sich im weiteren Verlauf der Entwicklung immer mehr zur Peripherie hin aus und erreicht am Tag 7 die Adventitia. Am Tag 9 ist schließlich ein Punkt erreicht, an dem über den lumennahen Gefäßwandbereichen keine Markierung mehr vorhanden ist, während die Adventitia weiter stark markiert ist. Das bedeutet, daß die Kollagensynthese in den lumennahen Wandbereichen ein Plateau erreicht hat, während sie in der Peripherie noch in vollem Gang ist. Ganz allgemein läßt sich zur Kollagenentstehung sagen, daß sie nicht wie Gillman (1968) beschrieb in der Peripherie beginnt und sich zum Lumen hin fortsetzt, sondern daß sie genau den entgegengesetzten Verlauf nimmt. Die von Levene (1961) durch chemische Analysen ermittelte Kollagenzunahme in der Aorta des Hühnerembryos ab Tag 10 und das Erreichen des Plateaus zur Geburtszeit sind, wenn man die gesamte Aortenwand betrachtet, sicher richtige Ergebnisse. Im einzelnen scheint es aber so zu sein, daß die Kollagenbildung im Bereich der Media, die von den glatten Muskelzellen ausgeht, schon etwa am Tag 10 ihr Plateau erreicht. Die starke Kollagenzunahme bis zur Geburt ist dann nur noch das Ergebnis der starken Kollagensynthese in den Fibroblasten der Adventitia.

Am Tag 6 ist die Anordnung embryonaler Mesenchymzellen um das Endotelrohr der Aorta herum so weit fortgeschritten, daß im dorsalen Wandabschnitt alle fünf Zellagen der Media vorhanden sind, während die ventrale Media nur aus drei Zellagen besteht. Zwei bis drei Zellagen der Adventitia sind ebenfalls schon vorhanden. Neben dem bekannten cranio-caudalen Entwicklungsgefälle fällt also in der Aortenwand ein dorso-ventrales Gefälle auf. Die dorsalen Abschnitte der Aortenwand sind immer früher und besser entwickelt als die ventralen. Die Zellen der Media und der Adventitia können am Tag 6 deutlich von embryonalen Mesenchymzellen unterschieden werden. Im Lichtmikroskop fallen die Mediazellen durch ihr dunkles Cytoplasma und ihre längsovale Form auf, während die Zellen der Adventitia schon annähernd

das Aussehen von Fibroblasten besitzen. Im Elektronenmikroskop sieht man im Cytoplasma der Mediazellen erste Myofibrillen, die auf den Beginn der Differenzierung zur glatten Muskelzelle hinweisen. Bemerkenswert ist, daß bis zum Tag 12 Myofibrillen nur in der dem Gefäßlumen zugewandten Seite des Cytoplasmas der Mediazellen vorkommen, während sie in späteren Entwicklungsphasen auch im den Adventitia zugewandten Cytoplasma gesehen werden (Karrer, Cox 1960). Diese Beobachtung läßt vermuten, daß die Faktoren, die die Differenzierung zur Mediazelle beeinflussen, von der lumennahen Seite der Gefäßwand ausgehen müssen.

Am Tag 7 ist die Entwicklung der Aortenwand so weit fortgeschritten, daß die Wandstruktur fast vollendet ist. Alle fünf Zellagen der Media sind vorhanden, die Adventitia ist bis auf einige noch vorhandene Zellücken ebenfalls ausgebildet und in allen Interzellularräumen ist Kollagen sichtbar. Der einzige Gefäßwandbestandteil, der noch völlig fehlt, ist das Elastin.

Einen Tag später, am Tag 8, können im Elektronenmikroskop im subendothelialen Spalt der Aorta die ersten Elastinplaques gesehen werden. Im Lichtmikroskop ist Elastin erst am Tag 10 in den Interzellularräumen der Media nachweisbar. Die Ursache dafür liegt wahrscheinlich in der relativ geringen Empfindlichkeit der Elastikafärbung, die dazu führt, daß erst recht große Elastinmengen dargestellt werden können. Die Autoradiographie mit H^3 -Leucin zeigt ebenfalls erst ab Tag 10 eine Markierung, die der Elastogenese zugeordnet werden muß. In der Zeit davor ist der H^3 -Leucineinbau im Rahmen der Kollagensynthese so stark, daß ein eventueller Einbau von H^3 -Leucin in das Elastin nicht getrennt aufgelöst werden kann. Erst am Tag 10, wenn die Kollagenbildung in der Media ein gewisses Niveau erreicht hat und außerdem das Elastin schon zum Teil als Fasermaterial vorliegt, ist die H^3 -Leucinmarkierung mehr der Elastinsynthese zuzuordnen.

Man kann somit feststellen, daß der schon am Tag 7 fast abgeschlossene Wandbau der Aorta jetzt am Tag 10 endgültig vollendet ist, da nunmehr auch das Elastin zwischen allen Lagen der Media vorhanden ist. Jeder morphogenetische Einfluß muß demzufolge vor diesem Zeitpunkt ansetzen, wenn er Differenzierungsvorgänge beeinflussen will.

In der nachfolgenden Entwicklungsperiode läßt sich nur noch das Wachstum der Aorta, beziehungsweise die Quantität ihrer Wandbestandteile beeinflussen, nicht mehr aber ihre eigentliche Entstehung.

An dieser Stelle soll auf ein eigenartiges Phaenomen hingewiesen werden, das das Differenzierungsverhalten der Mediazellen betrifft. Diese Zellen müssen zunächst als Fibroblasten bezeichnet werden, da sie Kollagen und wahrscheinlich auch Proteoglykane synthetisieren und sezernieren. Sehr bald treten aber bereits Myofilamentbündel in ihrem Cytoplasma auf. Jetzt müßten diese Zellen als glatte Muskelzellen gelten. Ohne jeden Zweifel sind sie aber immer noch für die Kollagensynthese verantwortlich, wenn auch nach der anfänglichen Hochleistungsperiode auf niedrigem Niveau oder sogar nur im Sinne des "turn over". Weder das Endothel noch die Zellen der Adventitia können nach den Erfahrungen anderer Autoren (Berker, persönliche Mitteilung, 1975) für die Vorgänge des Kollagenstoffwechsels in der Media verantwortlich gemacht werden. Zusätzlich zu diesen Aufgaben kommt dann noch die Synthese des elastischen Materials dazu. Die Zellen der Media sind also nicht nur Fibroblasten sondern auch Muskelzellen und Elastoblasten (Schwarz 1959, 1964). Den morphologischen Ausdruck dieser Funktionsbreite stellt das neben den Myofilamenten immer noch vorhandene raue endoplasmatische Retikulum und der relativ grosse Golgi-Apparat dar. Diese Zellen nehmen also durchaus wegen ihrer Modulationskapazität und funktionellen Vielfalt eine Sonderstellung ein. Hinzu kommt noch ihre Fähigkeit, unter pathologischen Bedingungen wieder zu Fibroblasten-ähnlichen Zellen zu werden. Über diese

Modulationsfreudigkeit können sicher funktionelle Belastungen abgefangen und auch die typischen Wandveränderungen unter hohem Blutdruckeinfluß erklärt werden. Ein ähnlicher Wechsel zwischen Fibroblasten- und Muskelzellverhalten kann übrigens auch im schwangeren Uterus (Merker 1969) und in der Nabelschnur (Schwarz 1964) beobachtet werden.

Um die Frage klären zu können, ob der Blutdruck die Entwicklung der Aortenwand beeinflusst, oder ob die Entwicklung der Aorta die Höhe des jeweiligen Blutdrucks bestimmt, muß der zeitliche Verlauf der Gefäßwandentwicklung mit der Entwicklung des Blutdrucks verglichen werden:

Aus der Verlaufskurve des systolischen Ventrikeldrucks in Abhängigkeit vom Entwicklungstag ist zu ersehen, daß es zwischen Tag 3 und Tag 6 nur zu einem recht geringen Druckanstieg von 1,0 mm Hg am Tag 3 auf 1,4 mm Hg am Tag 6 kommt. Das entspricht einer Druckzunahme von 40%. Die Ursache für diesen geringen Druckanstieg ist, wie der Verlauf der diastolischen Ventrikeldruckkurve zeigt, wahrscheinlich zum Teil in der noch unvollständigen Entwicklung des Herzens zu suchen. Wegen des noch unvollständigen Klappenmechanismus (Patten 1948) kommt es durch Rückstrom des Blutes aus der Aorta in die Ventrikel in der Diastole zu einem starken Anstieg des diastolischen Restvolumens in den Ventrikeln. Das bedeutet für das Herz eine Mehrbelastung, dem es in dieser Entwicklungsphase noch nicht gewachsen ist. Bis zum Zeitpunkt der Funktionsfähigkeit der Herzklappen (nach Patten (1948) etwa am Tag 7) ist das Herz somit nicht in der Lage einen starken systolischen Druck aufzubauen. Dazu kommt noch, daß durch das Fehlen von Elastin eine Windkesselfunktion der Aorta noch nicht möglich ist und der systolische Druck wegen des Fehlens der sog. "Widerstandsgefäße" nicht durch eine Änderung des peripheren Widerstandes beeinflusst werden kann. Andererseits ist es aber sinnvoll, daß es diese Regulationsmechanismen des arteriellen Drucks nicht gibt, solange die Herzklappen nicht funktionsfähig sind.

ein Herz, das sozusagen am Rand der "Insuffizienz" arbeitet, wäre sicher nicht in der Lage einen elastischen Windkessel zu füllen oder Blut gegen einen erhöhten peripheren Widerstand auszuwerfen, sondern die Folge wäre lediglich ein noch höheres diastolisches Restvolumen.

Zwischen Tag 6 und Tag 7 kommt es zu einer starken Zunahme des systolischen Ventrikeldrucks um 70%, nämlich von 1,4 mm Hg auf durchschnittlich 2,38 mm Hg. Da die Kurve des diastolischen Ventrikeldrucks am Tag 7 gegen 0 mm Hg geht, ist eine Erklärung für den starken Anstieg des systolischen Drucks sicher die, daß die Herzklappen jetzt funktionsfähig sind und das Herz deshalb imstande ist, einen größeren systolischen Druck zu erzeugen. Andererseits kann aber die jetzt fast fertige Ausbildung der Aortenwand als Hinweis darauf angesehen werden, daß die allgemeine Entwicklung des Gefäßsystems so weit fortgeschritten ist, daß die morphologischen Voraussetzungen für eventuelle Regulationsmöglichkeiten des arteriellen Blutdrucks gegeben sind.

Zwischen Tag 7 und 8 kommt es dann fast zu einer Verdoppelung des systolischen Blutdrucks von einem Tag zu anderen. Der Druck steigt von 2,38 mm Hg um fast 92% auf durchschnittlich 4,56 mm Hg. Dieser Druckanstieg fällt mit dem ersten Auftreten von Elastin in der Aortenwand zusammen. Da die Elastinmenge, die gesehen werden kann, aber noch so gering ist, daß sie für die Wandelastizität sicher kaum von Bedeutung ist, muß auch diese Druckzunahme in erster Linie durch die allgemeine Ausreifung des Kreislaufsystems bedingt sein. Wie van Mierop (1967) zeigen konnte, hängt der Anstieg des systolischen Blutdrucks während der Entwicklung des Hühnerembryos sehr eng mit der Zunahme des Körpergewichts zusammen. Da es ab Tag 7 auch zu einer starken Gewichtszunahme des Embryos kommt (van Mierop 1967) ist es verständlich, daß auch der Blutdruck ständig steigen muß, um die größer werdende Gewebemenge durchbluten zu können.

Betrachtet man nun den Zeitraum, an dem der Blutdruck wegen der geringen Druckamplitude und der geringen Veränderung des Drucks kaum morphogenetische Einflüsse ausüben kann, nämlich die Zeit zwischen Tag 3 und Tag 6, kommt man zu folgendem Ergebnis: In diesem Entwicklungszeitraum finden fast alle Schritte zur Differenzierung der Aortenwand statt. Der Schichtenbau der Gefäßwand in Media und Adventitia wird annähernd abgeschlossen, die Kollagensynthese hat begonnen und sich über alle Wandabschnitte ausgebreitet und die Zellen der Media und Adventitia haben mit ihrer Differenzierung zu glatten Muskelzellen bzw. zu Fibroblasten begonnen. Dem ersten starken Blutdruckanstieg zwischen Tag 6 und Tag 7 kann morphologisch nur die Vollendung der Media zu fünf Zellagen und die Entwicklung der Adventitia zugeordnet werden. Zwischen Tag 7 und Tag 8, dem Zeitraum in dem der Blutdruck am stärksten ansteigt, wird der Beginn der Elastogenese sichtbar. Zeichen dafür sind die ab Tag 8 im Elektronenmikroskop erkennbaren Elastinplaques im sub-endothelialen Spalt der Aortenwand. Aus Publikationen von Kadar (1971) und Gillman (1968) ist jedoch zu entnehmen, daß der Blutdruck nicht der auslösende Faktor für den Beginn der Elastogenese sein kann. Vielmehr beginnt die Elastinbildung, wenn die elastinbildenden Zellen einen Differenzierungsgrad erreicht haben, der die biochemischen Voraussetzungen für die Elastinsynthese erfüllen kann. Ist dieser Zeitpunkt erreicht, findet man Elastin nicht nur in der Aortenwand, sondern etwa zur gleichen Zeit auch in Geweben, die nur in sehr geringem Maß dem Blutdruck ausgesetzt sind, wie z.B. im Bronchialbaum. Ein morphogenetischer Einfluß des Blutdrucks muß deshalb auch für den Fall der Elastogenese verneint werden. Es spricht somit fast alles dagegen, daß die Differenzierung eines Endothelrohrs zu einer Arterie oder zu einer Vene durch einen so unspezifischen Reiz, wie es der Blutdruck ist, ausgelöst werden kann. Es bleibt aber weiter die grundlegende Frage ungeklärt, warum

sich in der frühen Phase der Gefäßwandentwicklung an das Endothelrohr der Aorta wie auch an jede andere Arterie sehr viel mehr embryonale Mesenchymzellen anlegen als an das entsprechende Endothelrohr der in der Nähe liegende Vene. Da die Beeinflussung durch den Blutdruck, wie oben angeführt, äußerst unwahrscheinlich ist, bliebe an physikalischen Beeinflussungsfaktoren eigentlich nur die unterschiedliche Strömungsrichtung des Blutes. übrig. Einleuchtender wäre aber doch die Vorstellung, daß hier genetisch Informationen, möglicherweise über chemotaktische und induzierende Kräfte realisiert werden.

Zusammenfassung:

An Hühnerembryos wurde die Entstehung der Aortenwand von Tag 3 bis Tag 12 lichtmikroskopisch, autoradiographisch und elektronenmikroskopisch verfolgt. Daneben wurde mit einem elektronischen Meßsystem (Statham P23V-Transducer mit Monitor SP 1400, Rikadenki B- 44S Multipen) der Verlauf des systolischen und diastolischen Ventrikeldrucks aufgezeichnet.

In den lichtmikroskopischen Präparaten sieht man am Tag 4 Zellstraßen, die zwischen den Myotomen und dem Endothelrohr der Aorta verlaufen und auf eine Beteiligung der Myotome an der Entwicklung der Gefäßwand hinweisen. Am Tag 5 zeigen erste Kollagenfasern im subendothelialen Spalt den Beginn der Kollagensynthese in der Aortenwand an. Am Tag 6 hat sich die Kollagenbildung über den gesamten Bereich der Media ausgedehnt. Im dorsalen Wandbereich besteht die Media jetzt schon aus fünf Zellagen, während im ventralen Abschnitt höchstens drei Lagen vorhanden sind. Zwei bis drei Zellagen der Adventitia sind ebenfalls sichtbar. Die Zellen, die die Wandschichten bilden, weisen am Tag 6 erste Differenzierungszeichen auf. Die Zellen der Media

werden durch ihr dunkles Cytoplasma und die länglich-ovale Form glatten Muskelzellen ähnlich und die Adventitiazellen besitzen schon annähernd die Form von Fibroblasten. Am Tag 7 hat die Kollagensynthese das Gebiet der Adventitia erreicht. Die Aortenwand ist jetzt abgesehen von einigen Zellücken in der Adventitia und dem Fehlen von Elastin fertig entwickelt. Ab Tag 10 sind in den mittleren Interzellularräumen der Media Elastinfasern nachweisbar, so daß nunmehr alle Wandbestandteile der Aorta vorhanden sind.

Die autoradiographischen Markierungen wurden mit S^{35} , H^3 -Thymidin und H^3 -Leucin durchgeführt. Es zeigte sich, daß der S^{35} -Einbau in die Aortenwand zu keinem Zeitpunkt zwischen Tag 3 und Tag 12 stärker war als der Einbau in das umgebende Mesenchym. Nach H^3 -Thymidingabe war stets die dorsale Aortenwand stärker markiert als die ventrale, was als Ausdruck für ein dorso-ventrales Entwicklungsgefälle innerhalb der Gefäßwand anzusehen ist. Bei der Markierung mit H^3 -Leucin wurde am Tag 5 ein Markierungsring um das Endothelrohr herum gesehen. In den nächsten beiden Tagen wird der Markierungsring stärker und dehnt sich weiter zur Peripherie hin aus. Am Tag 9 ist im lumennahen Gefäßwandbereich keine Markierung mehr vorhanden, während die Adventitia noch stark markiert ist. Hier bestehen also Beziehungen zur Kollagensynthese. Ab Tag 10 sind in den mittleren Interzellularräumen der Media kurze streifenförmige Markierungszonen sichtbar, die einem H^3 -Leucin-einbau im Rahmen der Elastogenese zugeordnet werden können.

Im Elektronenmikroskop fällt ab Tag 4 in den embryonalen Mesenchymzellen, die eine Ausrichtung zum Endothelrohr erkennen lassen, eine Zunahme der Zellorganellen auf, die auf biochemische Aktivitäten hinweisen. Am Tag 5 sind erste Kollagenfibrillen in den lumennahen Interzellularräumen sichtbar. Am Tag 6 erscheinen diese Fibrillen dann auch im Bereich der Adventitia. Ebenfalls am Tag 6 kommt es zu ersten Myofibrillen im Cytoplasma der Mediazellen.

Diese Myofibrillen treten jedoch nur in der dem Lumen zugewandten Seite des Cytoplasmas auf. Am Tag 8 sind im subendothelialen Spalt die ersten Elastinplaques erkennbar. Am Tag 10 ist Elastin dann, zum Teil auch schon in Faserform, zwischen allen Zellagen der Media vorhanden. Die Entwicklung der Wandbestandteile der thorakalen Aorta kann somit am Tag 10 als abgeschlossen betrachtet werden.

Die Blutdruckmessungen zeigten, daß es zwischen Tag 3 und Tag 6 nur zu einem relativ geringen Anstieg des systolischen Ventrikeldrucks kommt. Am Tag 3 beträgt der durchschnittliche systolische Ventrikeldruck 1,00 mm Hg, der diastolische Ventrikeldruck 0,9 mm Hg. Bis zum Tag 6 steigt der systolische Druck auf 1,4 mm Hg, was einer Druckzunahme gegenüber Tag 3 von 40% entspricht. Der diastolische Ventrikeldruck ist zu diesem Zeitpunkt schon auf 0,5 mm Hg abgesunken. Zwischen Tag 6 und Tag 7 kommt es dann zu einer Zunahme des systolischen Ventrikeldrucks von 1,4 mm Hg auf 2,38 mm Hg, was einer Drucksteigerung um etwa 70% entspricht. Der diastolische Ventrikeldruck beträgt jetzt annähernd 0 mm Hg. Zwischen Tag 7 und Tag 8 nimmt der Druck noch stärker zu. Der systolische Druck von 2,38 mm Hg am Tag 7 wird bis zum Tag 8 um 92% auf 4,56 mm Hg erhöht.

Die Frage nach dem morphogenetischen Einfluß des Blutdrucks auf die Entwicklung der Aortenwand läßt sich wie folgt beantworten: In der Zeit der geringsten Blutdruckveränderungen, nämlich zwischen Tag 3 und Tag 6, finden fast alle für die Ausbildung der Aortenwand wichtigen Schritte statt. Die Anordnung embryonaler Mesenchymzellen um das Endothelrohr zur Media und Adventitia hat begonnen und ist teilweise auch schon abgeschlossen. Die Kollagenbildung hat eingesetzt und sich über den ganzen Wandbereich ausgebreitet. Die Differenzierung der Zellen der Gefäßwand zu glatten Muskelzellen

und Fibroblasten ist sichtbar. Der ab Tag 7 einsetzende starke Blutdruckanstieg muß dann als Folge der fortgeschrittenen Entwicklung des Herz- und Gefäßsystems angesehen werden. Einziger Bestandteil der Aortenwand, der erst nach dem starken Blutdruckanstieg auftritt, ist das Elastin. Es ist jedoch bekannt, daß die Elastogenese etwa zur gleichen Zeit im gesamten Embryo beginnt. Es spielt dabei keine Rolle, ob das betreffende Organ direkt dem Blutdruck ausgesetzt ist, wie z.B. die Aorta, oder ob es nur sehr schwach durchblutet wird wie z.B. der Bronchialbaum. Ein Einfluß des Blutdrucks auf die Elastogenese muß deshalb bestritten werden. Die Differenzierung der Gefäße zu Arterien und Venen ist demnach mit großer Wahrscheinlichkeit genetisch vorbestimmten Entwicklungsschritten unterworfen und ist nicht wie oft angenommen eine Folge der unterschiedlichen Druckverhältnisse in diesen beiden Gefäßsystemen.

Literaturverzeichnis

- Barry, A.: The aortic arch derivatives in the human adult.
Anat. Rec. 111 (1951), 221-234
- Borowski, R.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über den Wandbau der grossen Gefässe zum Zeitpunkt des Kardinalvenensystems bei der Maus.
Inaugural-Dissertation am II. Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin (1972)
- Bremer, J.L.: The development of the aorta and the aortic arches in the rabbits.
Am. J. Anat. 13/2, (1912), 111-128
- Büssow, H., Wulfhekel, U.: Die Feinstruktur der glatten Muskelzellen in den grossen muskulären Arterien der Vögel.
Zt. f. Zellforschung 125 (1972), 339-352
- Burlingame, P., Long, J.A., and Ogden E.: The blood pressure of the fetal rat and its response to renin and angiotonin.
Am.J. Physiol. 137/3, (1942), 473-484
- Cliff, W.J.: Observations on healing tissues. A combined light and electron microscopic investigation.
Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B, Biological Science 733, 246, (1963), 305-325
- Evans, H.M.: On the development of the aortae cardinal and umbilical veins, and the other blood vessels of vertebrate embryos from capillaries.
Anat. Record. 3, (1909), 498-518
- Fritz, K.E., Jarmolych, J., Daoud, S.: Association of DNA-synthesis and apparent dedifferentiations of aortic smooth muscle cells in vitro.
Exp. mol. Path., 12/3, (1970), 354-362
- Fyfe, F.W., Gillman, T., Oneson, I.B.: A combined quantitative chemical, light, and electron microscope study of aortic development in normal and nitrile treated mice.
Annals of the New York Academy of Sciences, 149, (1968), 591-627

- Gauer, O.H.: Kreislauf des Blutes in: Landois-Rossmann, Handbuch der Physiologie des Menschen, 28. Auflage, (1960), Verlag Urban u. Schwarzenberg, Berlin-München
- Jonzales-Crussi, F.: Vasculogenesis in the chick embryo. An ultrastructural study. *An. J. Anat.* 130, (1969), 441-459
- Grabowski, C.T., Tsai, E.N.C., Toben, H.R.: The effects of teratogenic doses of hypoxia on the blood pressure of chick embryos. *Teratology* 2, (1969), 67-76
- Grabowski, C.T., Tsai, E.N.C., Chernoff, N.: The effects of trypan blue on the blood pressure of rat embryos. *Teratology* 4, (1971), 69-74
- Haar, J.L.: A phase and electron microscopic study of vasculogenesis and erythropoiesis in the Yolk sac of the mouse. *Anat. Rec.* 170, (1971), 199-224
- Hamburger, V., and Hamilton, H.L.: A series of normal stages in the development of the chick embryo. *J. Morph.* 88, (1951), 49-92
- Hill, L., and Azuma, Y.: Blood pressure in the two-three day chick embryo. *J. Phys., London*, 62, (1927), 27-28
- Hochstetter, F.: Die Entwicklung des Blutgefäßsystems. Hertwig's Handbuch der vergl. und expt. Entw. d. Wirbeltiere. 1906 Bd. 3 II 21
- Hughes, A.F.W.: The blood pressure of the chick embryo during development. *J. Exp. Biol.* 19, (1942), 232-237
- Jaffe, O.C.: Haemodynamic factors in the development of the chick embryo heart. *Anat. Rec.* 151, (1965), 119-124
- Kadar, A., Gardner, D.L., Busch, L.: The relation between the fine structure of smooth muscle cells and elastogenesis in the chick embryo aorta. *J. Path.* 104/4, (1971), 253-260
- Karrer, H.E., Cox, J.: Electron microscope study of developing chick embryo aorta. *J. Ultrastruct. Res.* 4 (1960), 420, 454
- Keyserlingk, D.Graf: Über die Bedeutung des intrazellulären, kontraktiven Systems für die Lokomotion der Fibroblasten. *Cytobiologie*, Bd. 1,3, (1970), 259-272

- Landis, M.M.: The capillary pressure in frog mesentery as determined by micro-injection methods. *Am.J. Physiol.* 75, (1926), 548-571
- Langman, J.: *Medizinische Embryologie*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1970
- Levene, C.I.: Collagen as a tensile component in the developing chick aorta. *J. Exp. Path.* 42/1, (1961), 316-321
- Maltier, J.P.: Effets de l'adrenaline sur l'appareil circulatoire du foetus de rat de 17 jours. *Archives d'Anatomie microscopique* 61 (1972), 153-174
- Merker, H.-J.: Die Gestagene in: *Handbuch der Exp. Pharmak.* Bd 12 (1969), Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Mierop van, L.H.S., and Bertuch, C.J.: Development of arterial blood pressure in the chick embryo. *Am.J. Physiol.* 212/1, (1967), 43-48
- Paff, G.H., Boucek, R.J., and Gutten, G.S.: Ventricular blood pressures and competency of valves in the early embryonic chick heart. *Anat. Rec.* 151, (1965), 119-124
- Parrish, D., and Bell, J.W.: A technique for obtaining detailed pulse pressure information from microcirculation. *J. Appl. Physiol.* 18, (1963), 189-191
- Patten, B.M.: The early embryology of the chick, 1. Edition, 1928, The Blakiston Company, Philadelphia-Toronto
- Patten, B.M., Kramer, T.C., and Barry, A.: Valvular action in the embryonic chick heart by localized apposition of endocardial masses, *Anat. Rec.* 102, (1948), 299-311
- Pexieder, T.: Blood pressure in the 3th and 4th aortic arch and morphogenic influence of laminar blood stream in the development of the vascular system of the chick embryo. *Folia Morph. (Praha)*, 17/3, (1969), 273-290
- Rapoport, S.M.: *Medizinische Biochemie*. 4. Auflage (1966) VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin
- Rodbard, D.: Die Einwirkung biophysischer Faktoren auf vaskuläre Strukturen. Vortrag auf dem 3. Intern. Symp. f. Atherosklerose Berlin vom 25.-28.10.1973

- Audolph, A.L., Heyman, L.A., Teramo, A.A.W., et al.: Studies on circulation of the prevascular human fetus. Fed. Res. 5, (1971), 452-465
- Schwarz, W.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Alterveränderungen in der Media der menschlichen Aorta. Virch. Arch. 324 (1954), 612-618
- Schwarz, W.: Die Entstehung der elastischen Fasern in der embryonalen Lunge des Menschen. Vortrag auf dem IV Int. Kongress f. Elektr. Mikroskopie, Sept. 1958 in Berlin
- Schwarz, W.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Bildung der elastischen Membranen in der embryonalen Aorta des Menschen. Verh. d. Anat.-Ges. 56 Vers. in Zürich 8.- 12. April 1959, 5308-320
- Schwarz, W.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Warthon'sche Sulze menschlicher Embryonen. Verh. d. Anat.-Ges. 59, Vers. 63 (1964), 102-113
- Schwarz, W., Merker, H.-J., Jahnke, A., und Hoffmann, M.: Wachstum und Altern des Bindegewebes 10 Jahre Freie Universität. Berliner Med. Festschrift, 1958, 588-589
- Schwarz, W., Merker, H.-J., Kutzschke, A.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Fibrillogenese in Fibroblastenkulturen. Zt. f. Zellforschung 56, (1962), 107-124
- Schultze, B.: Die Orthologie und Pathologie des Nucleinsäure und Eiweißstoffwechsels der Zelle im Autoradiogramm in: Handb. d. allg. Path. (1968), 466-667. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York
- Takagi, K.: Electron microscopical and biochemical studies of the elastogenesis in embryonic chick aorta. 1. Fine structure of developing embryonic chick aorta. 2. On elastins isolated from the subcellular fractions of embryonic chick aorta. Kumamoto Med. Journal Vol 22, No 1 (1969)
- Takabayashi, S., Bachwinkel, K.P., Themann, A., et al.: Ultrastrukturelle Aspekte bei Aortenhomotransplantat Aufbau der Neointima und das Verhalten der glatten Muskelzellen des Transplantates. Beiträge f. Pathologie, Bd 144, (1971), 166-183

Abb. 1: Querschnitt durch den thorakalen Bereich eines Hühnerembryos Tag 3. V=Herzventrikel, M=Magen-Darmkanal, A=Aorta, RM=Rückenmark, S=Somiten. Vergr. 1:65

Abb. 2: Querschnitt durch ein Hühnerembryo Tag 4. Beginnende Auflösung der Somiten (S) mit Zellverdichtungen im Bereich der dorsalen Aorta (A), der Chorda dorsalis (C) und des Rückenmarks (RM). Seitlich des Magen-Darmtrakts (D.) liegen beidseits die Vv. cardinales posteriores (Vcp). Vergr. 1:65

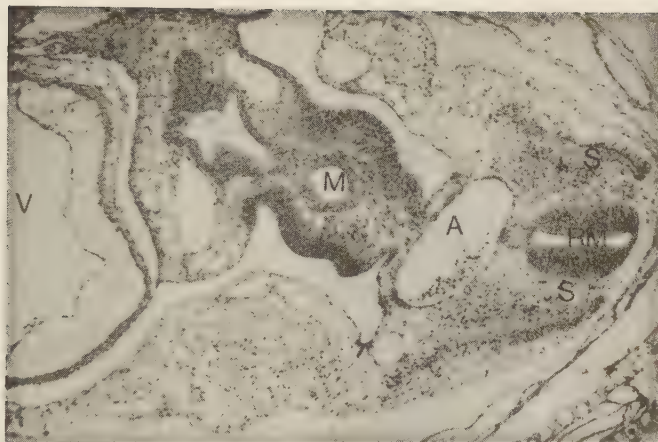


Abb. 1

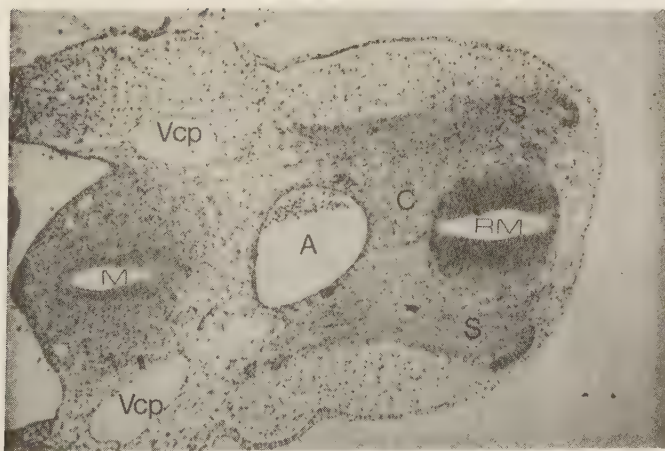


Abb. 2

Abb. 3: Querschnitt durch ein Hühnerembryo Tag 5. Von den Somiten (S) und der Chorda dorsalis (C) ausgehender Beginn der Wirbelkörperbildung. Davor Anschnitt der Aorta (A) und dahinter der des Rückenmarks (RM). Vergr. 1:65

Abb. 4: Querschnitt durch ein Hühnerembryo Tag 6. Zunehmende Verdichtung des Wirbelkörpers (WK). Beidseits der Aorta (A) befinden sich die Lungenanlagen (L). Vergr. 1:80



Abb. 3

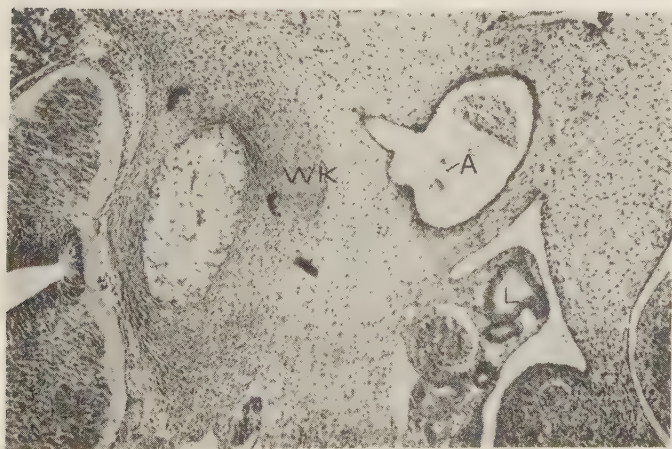


Abb. 4

Abb. 5: Querschnitt durch ein Hühnerembryo Tag 9. Seitlich des Rückenmarks (RM) liegen Spinalganglien (G). Vor dem Wirbelkörper (WK) befinden sich Muskeln (M) vor denen die Aorta (A) liegt. Vergr. 1:65

Abb. 6: Querschnitt durch ein Hühnerembryo Tag 12. Seitlich der Aorta (A) liegen die Lungenanlagen (L). Von der Aorta läuft eine Intercostalarterie (I) zum Wirbelkörper (wk). Verg. 1:80

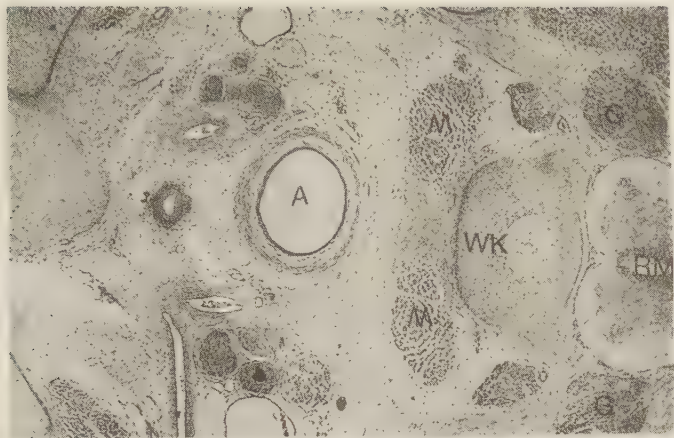


Abb. 5



Abb. 6

Abb.7: Autoradiogramm der Aorta eines Hühnerembryos Tag 4 nach H^3 -Thymidinmarkierung. Hauptsächlich Markierung der embryonalen Mesenchymzellen (M) und der Erythroblasten (Er). Vereinzelte Markierung der Endothelzellen weisen jedoch auch auf Wachstumsvorgänge des Endothels hin.
Vergr. 1: 800

Abb.7a: Autoradiogramm wie oben in stärkerer Vergrößerung. Anlagerung überwiegend markierter embryonaler Mesenchymzellen (M) an das z.T. ebenfalls markierte Endothel (E), Er= embryonale Erythroblasten.
Vergr. 1:2000

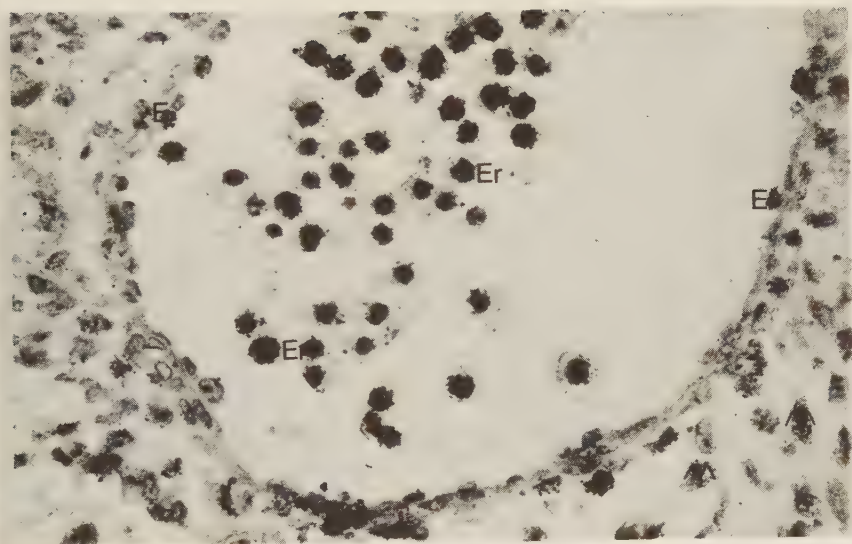


Abb.7

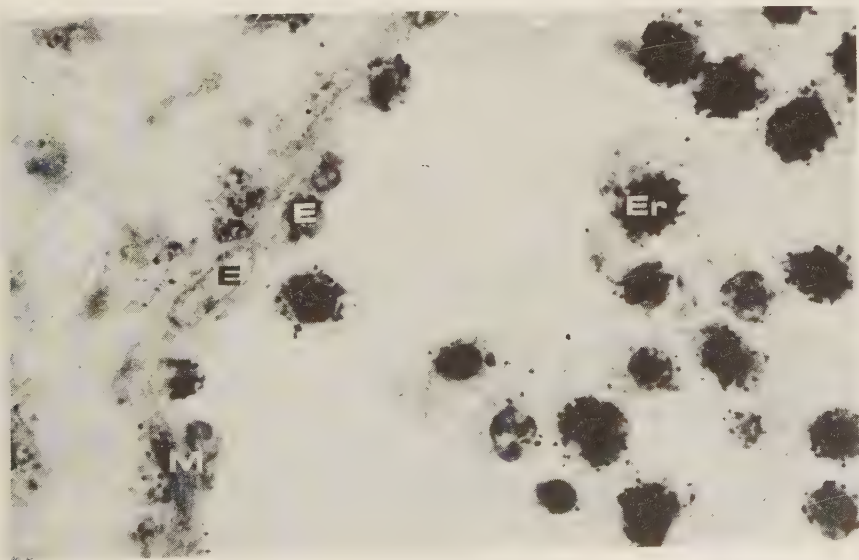


Abb.7a

Abb.8: Autoradiogramm der Aorta eines Hühnerembryos Tag 5 nach H^3 -Thymidinmarkierung. Starke Markierung der embryonalen Mesenchymzellen (M), der Endothelzellen (E) und der Erythroblasten (Er). Eine Verdickung der Aortenwand durch Anlagerung embryonaler Mesenchymzellen an das Endothel ist erkennbar.

Vergr. 1:300

Abb.9: Autoradiogramm der Aorta eines Hühnerembryos Tag 8 nach H^3 -Thymidinmarkierung. Das Gefäßlumen ist voller markierter Erythroblasten (Er). Die schon bei dieser geringen Vergrößerung erkennbare starke Markierung der Mediazellen (ME) weist auf ausgeprägte Proliferationsaktivitäten zu diesem Zeitpunkt hin.

Vergr. 1:500

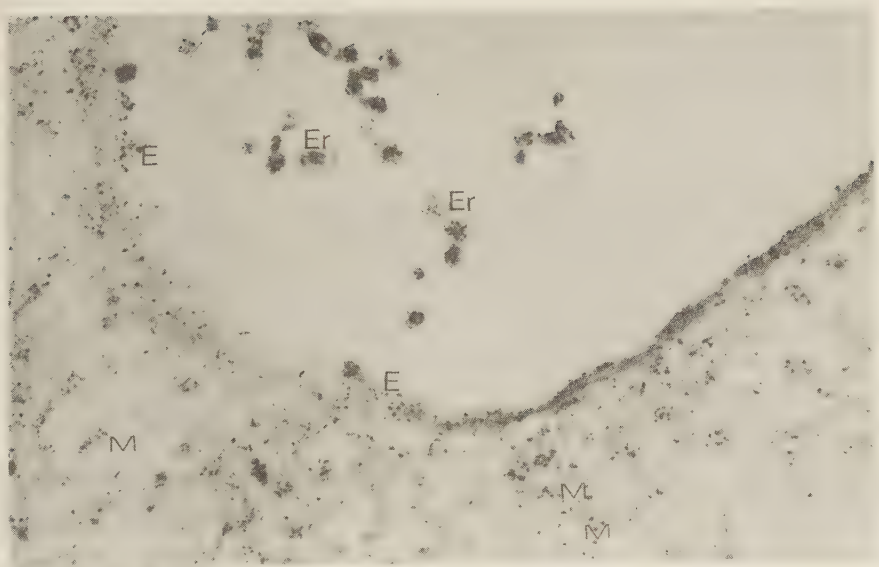


Abb. 8

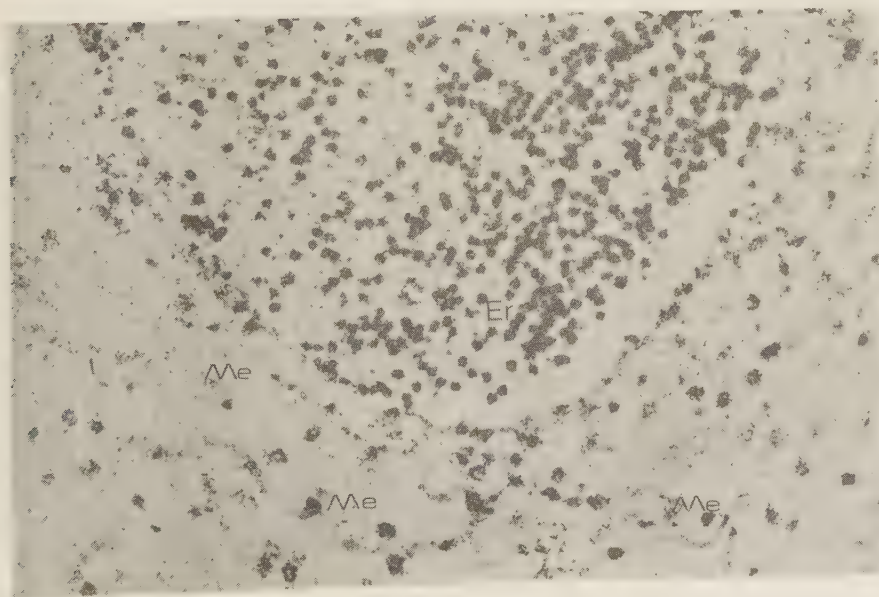


Abb. 9

Abb.10: Autoradiogramm der ventralen Aortenwand eines Hühner-embryos Tag 12 nach H^3 -Thymidinmarkierung. Im Gegensatz zur stark markierten Umgebung sind in der Aortenwand relativ wenig Mediazellen (Me) und Fibroblasten (F) markiert. Im Gefäßlumen (L) liegen markierte Erythroblasten (Er).
Vergr. 1:800

Abb.10a: Autoradiogramm der lateralen Aortenwand obiger Aorta.
Im Gegensatz zum ventralen Bereich finden sich in diesem Abschnitt zahlreiche markierte Media(Me)- und Adventitiazellen (F), L=Gefäßlumen, E=Endothelzelle.
Vergr. 1:800

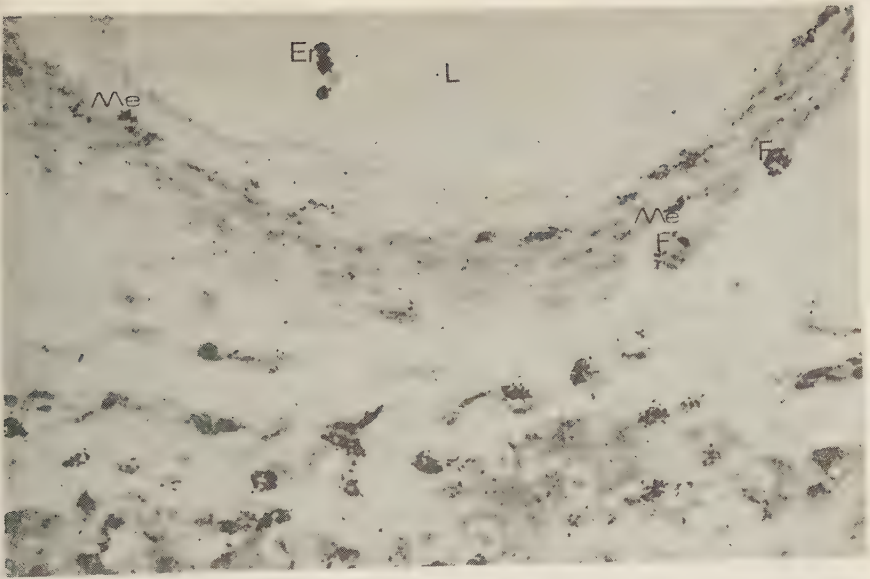


Abb. 10

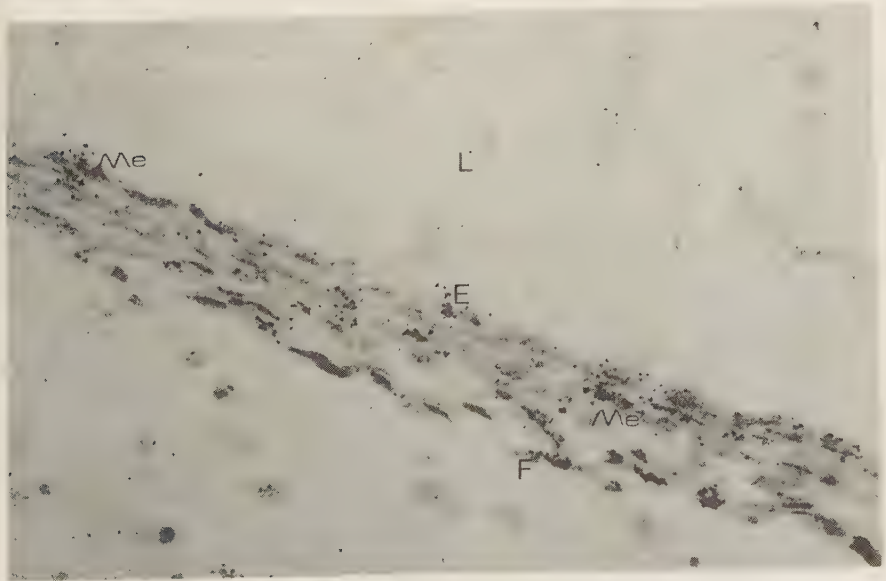


Abb. 10a

Abb.11: Autoradiogramm der Aorta eines Hühnerembryos Tag 3 nach H^3 -Leucinmarkierung. Als Zeichen einer starken Proteinsynthese zu diesem Zeitpunkt, weisen sowohl die Erythroblasten (Er) wie auch die Endothelzellen (E) eine Markierung auf. Das umliegende Mesenchym (M) und die Chorda dorsalis (C) sind ebenfalls markiert.
Vergr. 1:800

Abb.12: Autoradiogramme der Aortenwand eines Hühnerembryos Tag 9 nach H^3 -Leucinmarkierung. Über dem Kollagen der Adventitia ist die Zahl der Silberkörner etwas höher als in den übrigen Wandbereichen. L=Gefäßlumen, Me=Media, E=Endothel.
Vergr. 1:2000

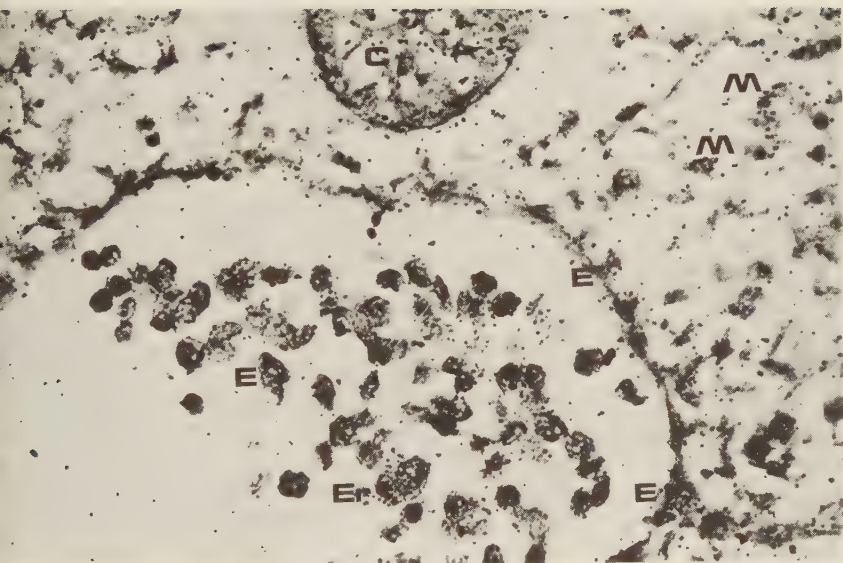


Abb. 11

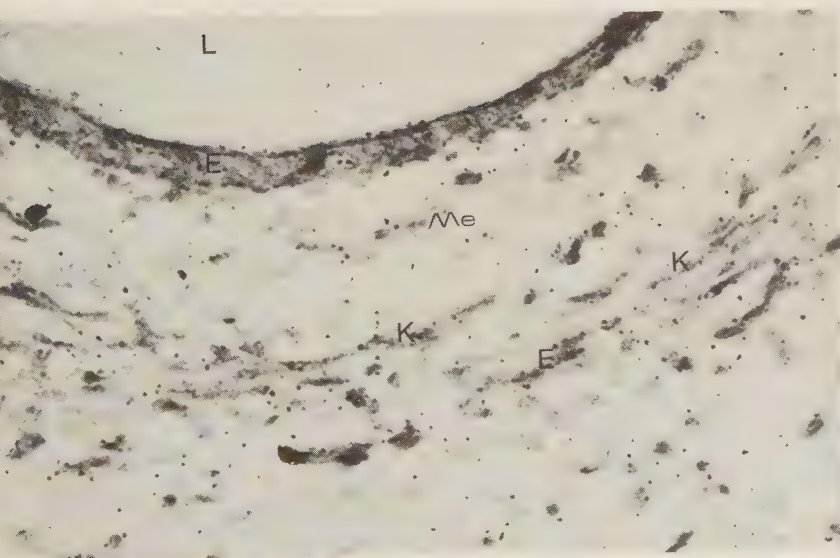


Abb. 12

Abb.1 : Autoradiogramm der Aortenwand eines Hühnerembryos
Tag 12 nach H^3 -Leucinmarkierung. Von der Aorta (A)
geht eine Intercostalarterie (I) ab. Im Bereich der
Media (Me) befinden sich streifenförmige Markierungs-
zonen, die Elastinfasern zugeordnet werden können
(Pfeil).
Vergr. 1:800

Abb.14: Übersicht eines Autoradiogramms der Aorta (A) eines
Hühnerembryos Tag 8 nach S^{35} -Markierung. Die starke
Markierung als Zeichen einer diffusen Mucopoly-
saccharidsynthese erschwert eine genaue Zuordnung der
Markierung zu bestimmten Strukturen. M=embryonales
Mesenchym.
Vergr. 1:200

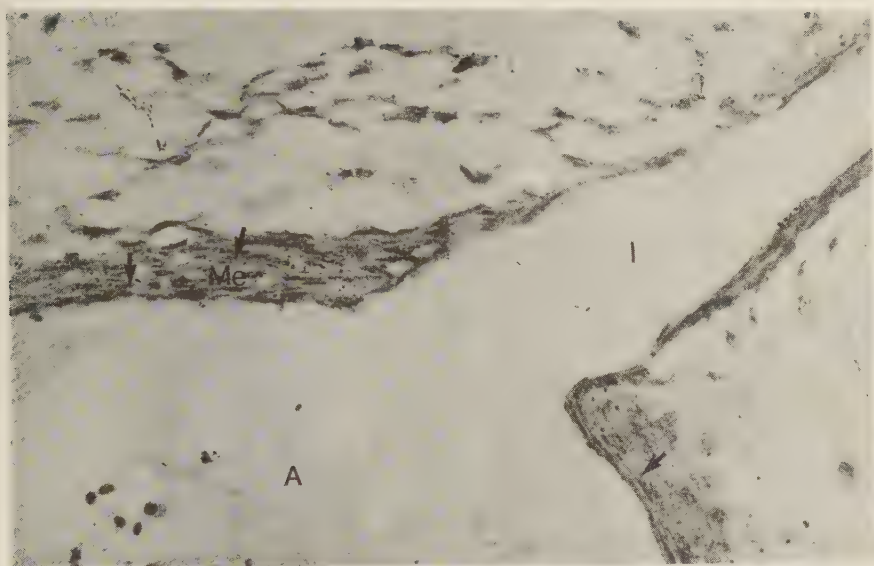


Abb. 13

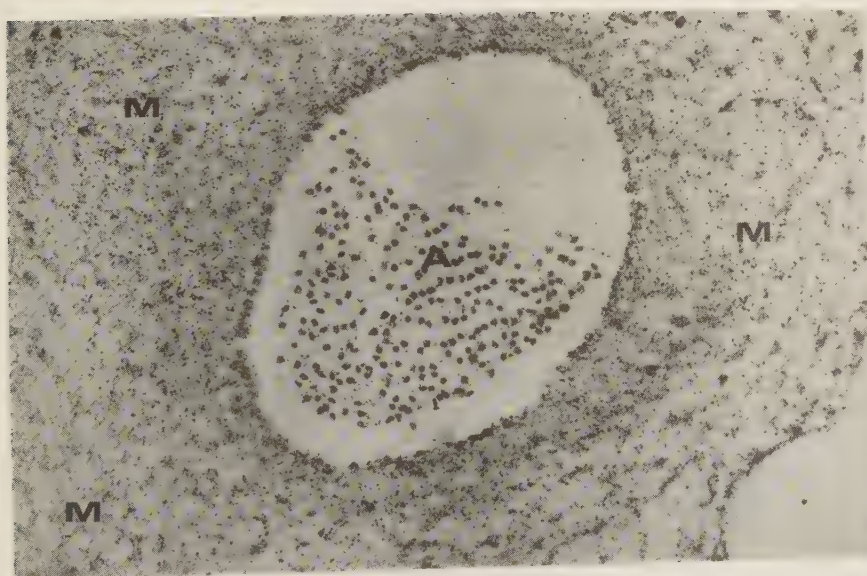


Abb. 14

Abb.15: Links die Aortenwand (A), rechts die Venenwand (V) eines 3,5 Tage alten Hühnerembryos. Beginn der Anlagerung von embryonalen Mesenchymzellen (M) an das Aortenendothel (E), LA=Aortenlumen, LV=Venenlumen, Er=Embryonaler Erythroblast, I=mesenchymales Interstitium.
Vergr. 1:2800

Abb.16: Aortenwand eines 3,5 Tage alten Hühnerembryos.
LA=Aortenlumen, E=Endothelzelle, Pfeil=Kontaktstelle zwischen zwei Endothelzellen mit close contacts, MI=Mitochondrien, ER=endoplasmatisches Retikulum.
Vergr. 1:12000

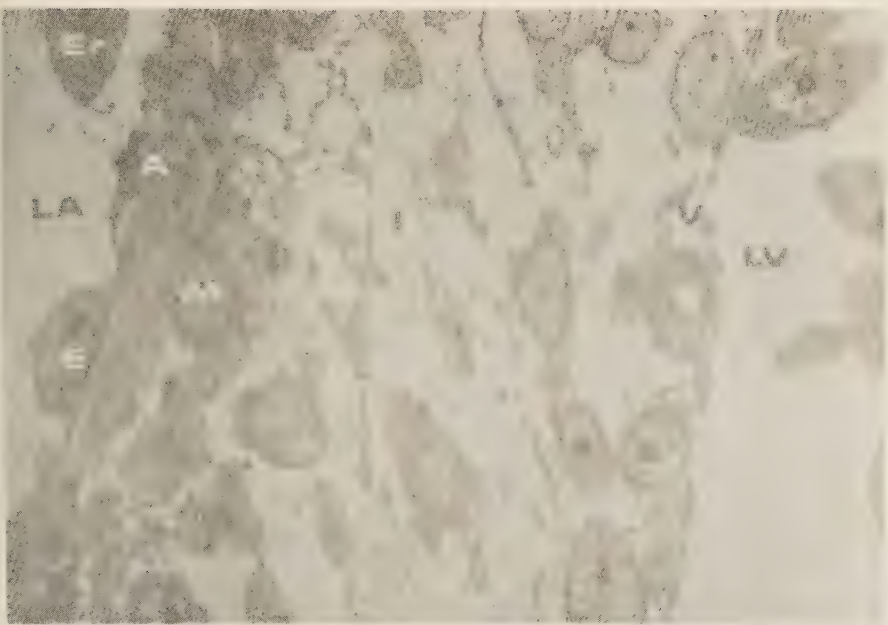


Abb. 15

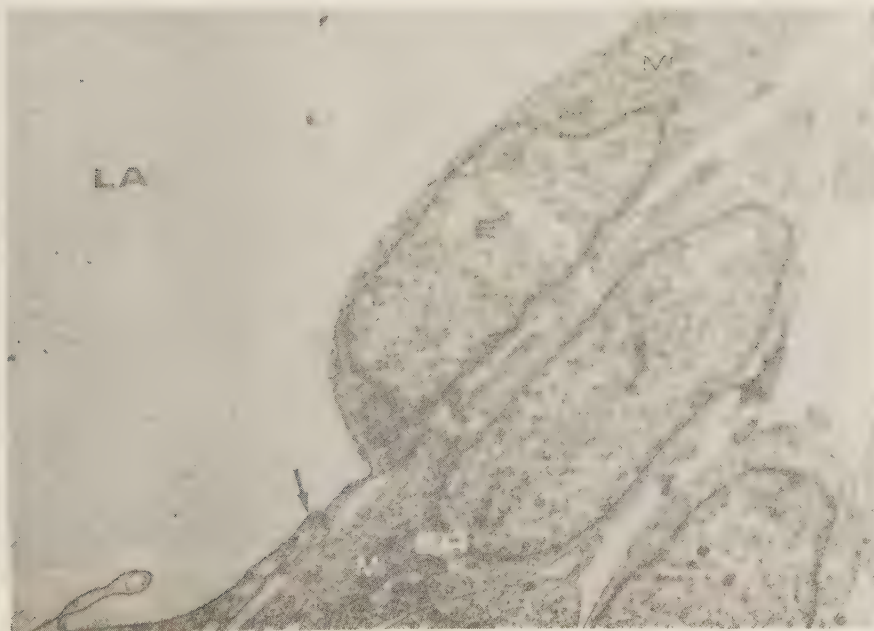


Abb.17: Übersicht über die Aortenwand eines Hühnerembryos
Tag 6. Er=embryonaler Erythroblast, E=Endothelzelle,
My=Myoblast der Media, F=Fibroblast der Adventitia,
M=embryonale Mesenchymzelle, V=Vesikel in den En-
dothelzellen, ER=endoplasmatisches Retikulum, Mi=
Mitochondrien.
Vergr. 1:3500

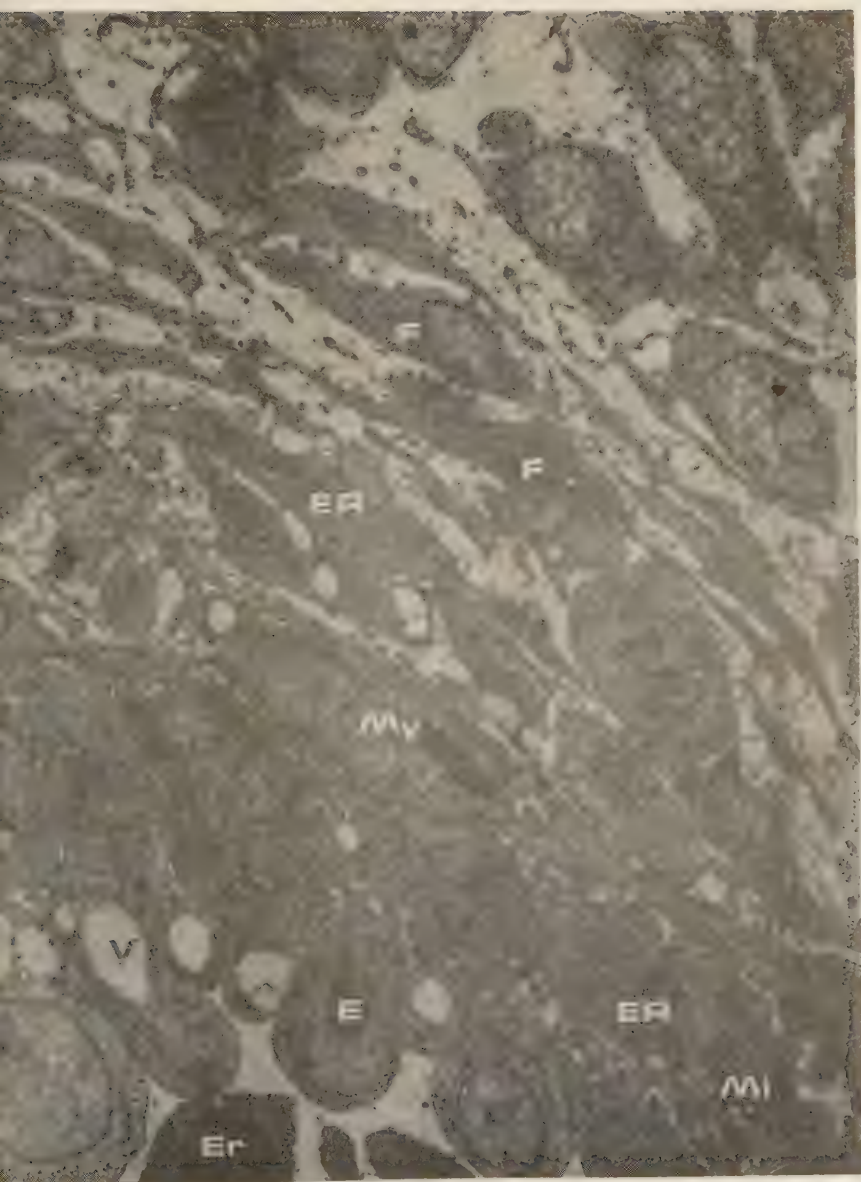


Abb.18: Endothel-(E) und Mediazelle (ME) der Aorta eines Hühnerembryos Tag 6, ER=rauhes endoplasmatisches Retikulum, MI=Mitochondrien. Am Rand der Mediazelle sind erste Myofilamente (My) erkennbar. Pfeil=Kollagenfibrillen im subendothelialen Spalt (SU).
Vergr. 1:56000



Abb. 18

Abb.19: Endothel(E) und Media (ME) der Aorta eines Hühner-embryos Tag 6. In der Mediazelle weisen ein rauhes endoplasmatisches Retikulum (ER) und zahlreiche dichtgepackte Mitochondrien (Mi) auf biochemische Aktivitäten der Zelle hin. Im subendothelialen Spalt (SU) und im Spalt zwischen den Mediazellen befinden sich zahlreiche Kollagenfibrillen (Pfeil). My=Myofilamente in einer Mediazelle.

Vergr. 1:35000

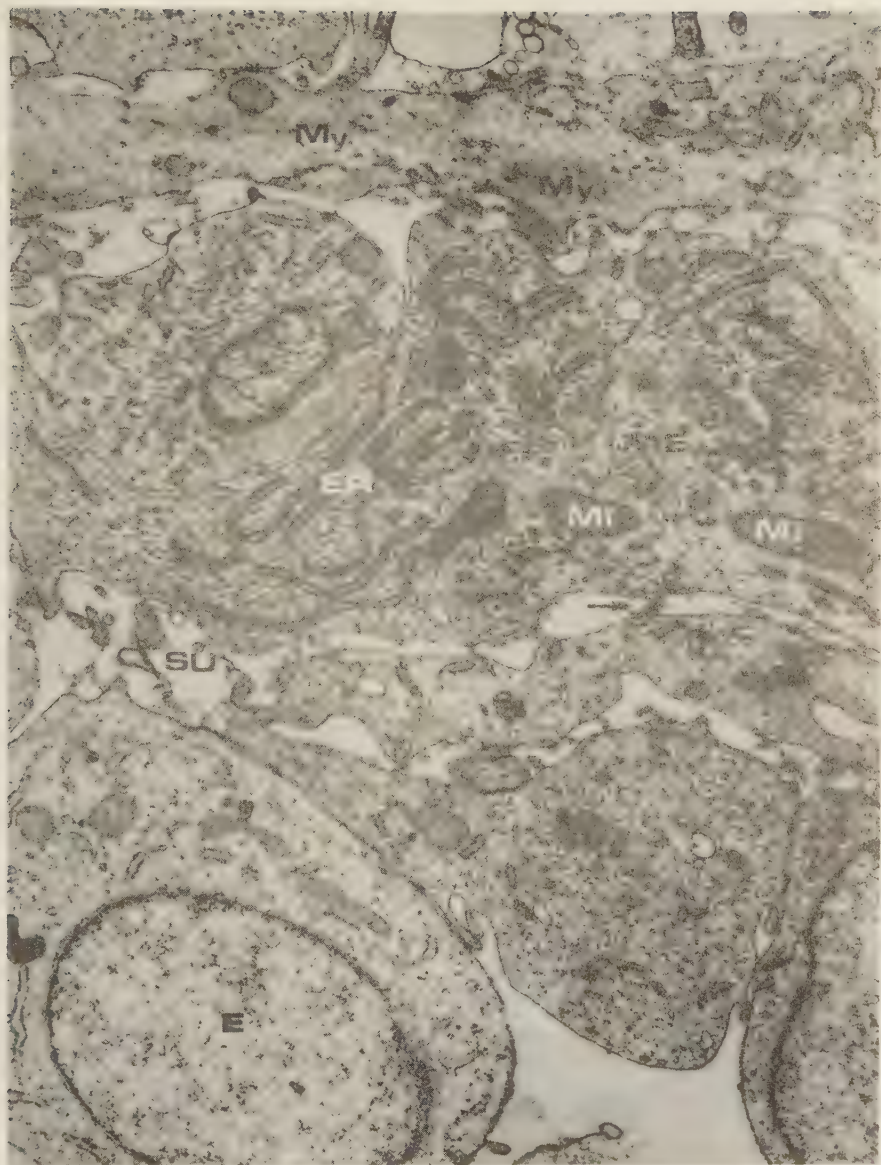


Abb. 19

Abb.20: Media der Aorta eines Hühnerembryos Tag 6. Neben Myofilamenten (My) befinden sich im Cytoplasma der Mediazellen (ME) zahlreiche dichtgepackte Mitochondrien und ein rauhes endoplasmatisches Retikulum als Zeichen biochemischer Aktivitäten. In den Interzellularräumen sind Kollagenfibrillen sichtbar (Pfeil).

Vergr. 1:35000

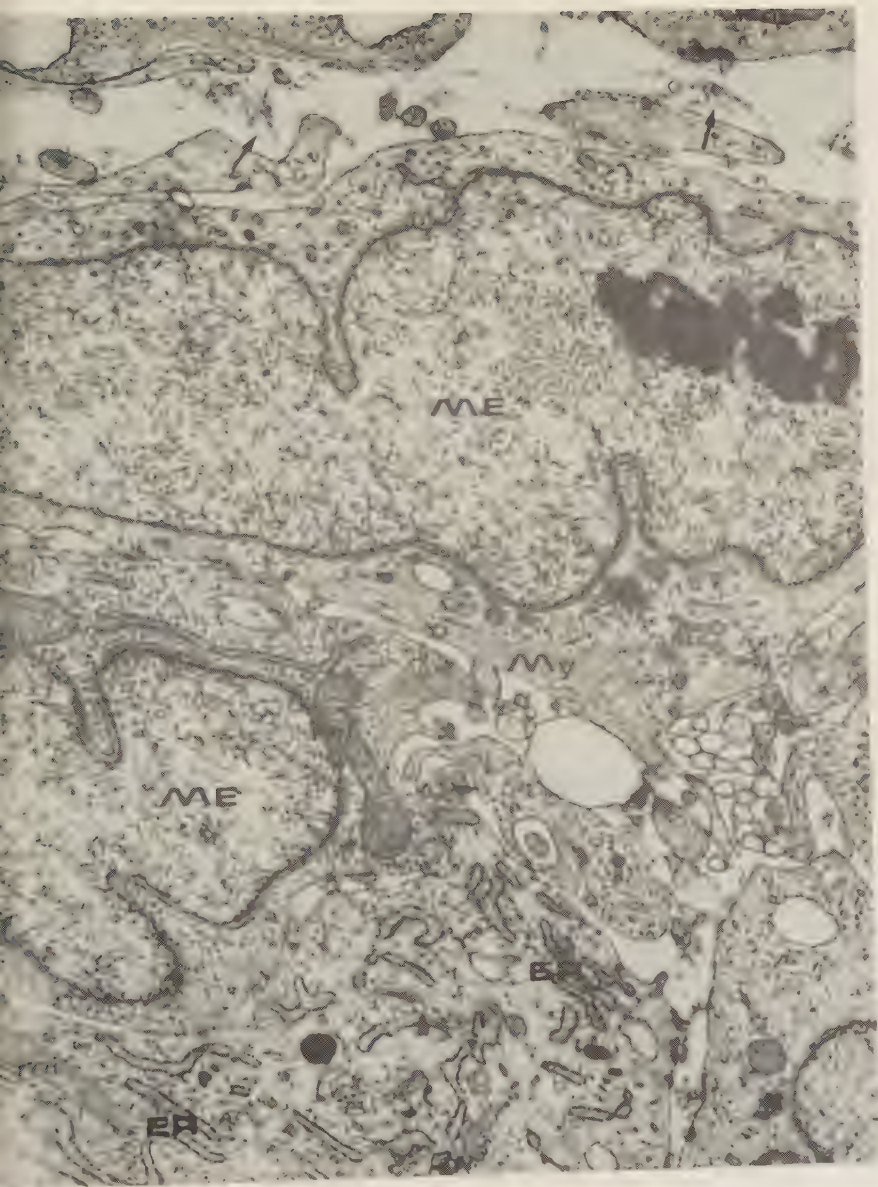


Abb.21: Mediazellen (Me) der Aorta eines Hühnerembryos
Tag 6. bei stärkerer Vergrößerung. My=Myofilamente,
Pfeil=Kollagenfibrillen im Interzellularraum.
Vergr. 1:112000

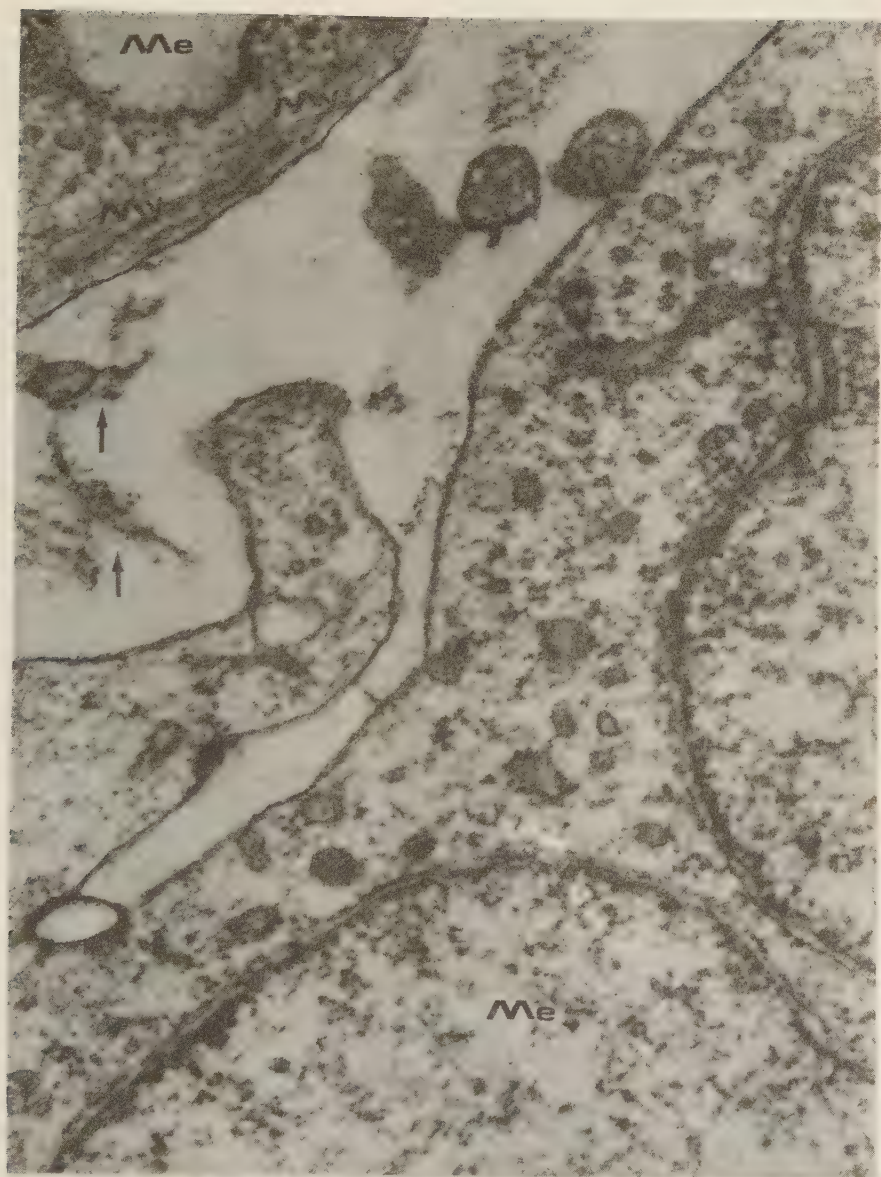


Abb. 21

Abb.22: Media (Me) und Adventitia (F) der Aortenwand eines Hühnereimbryos Tag 6. In den Interzellularräumen der Adventitia zahlreiche Kollagenfibrillen (↗), die zum Teil schon zu größeren Einheiten zusammengetreten sind (↗). My=Myofilamente in einer Mediazelle, Mi=Mitochondrien, Fi=Fibroblast, M=embryonale Mesenchymzelle.

Vergr. 1:35000

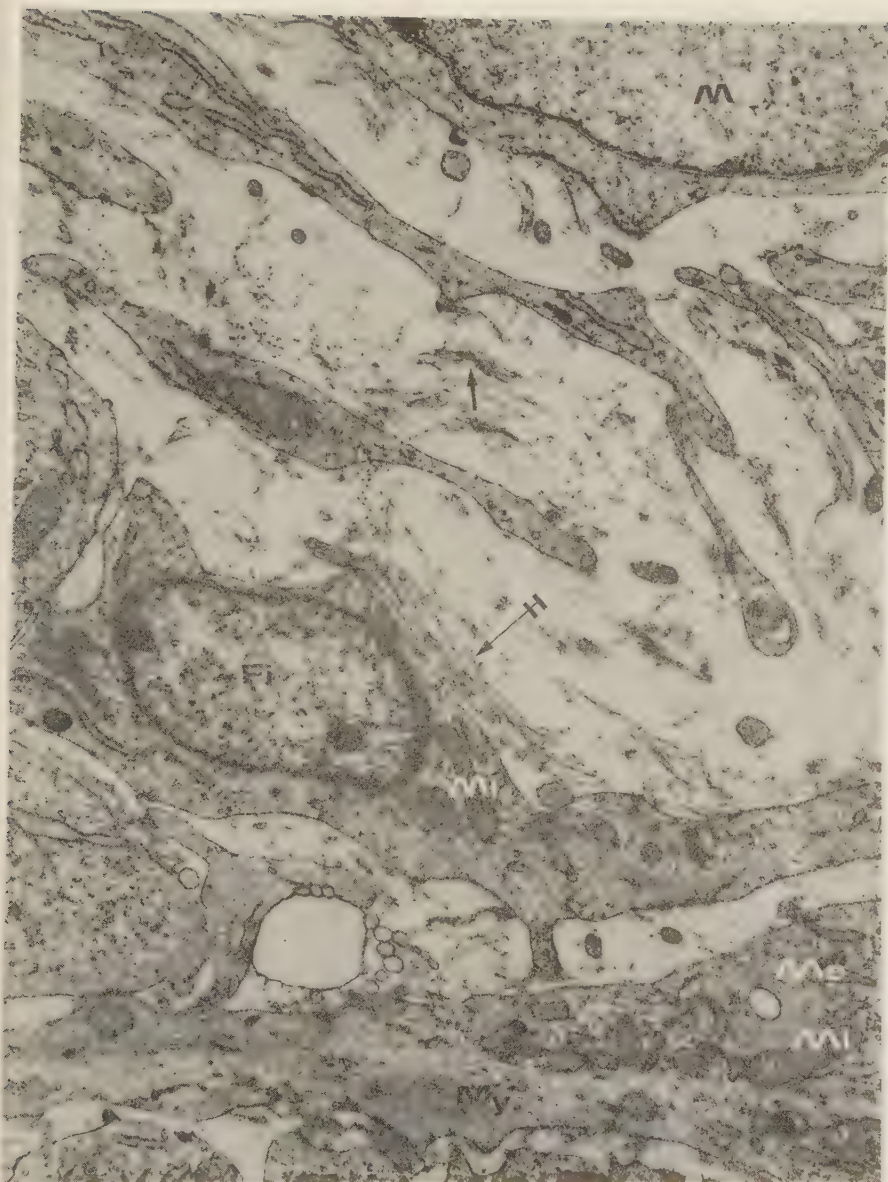


Abb. 22

Abb.23: Aortenwand eines Hühnerembryos Tag 7. Verdichtung des subendothelialen Spalts (SU) zwischen Endothel (E) und Media (ME) durch Zusammenrücken der Mediazellen. Im Gefäßlumen einige embryonale Erythroblasten (Er). Mi=Mitochondrien, ER=endoplasmatisches Retikulum.

Vergr. 1:21000

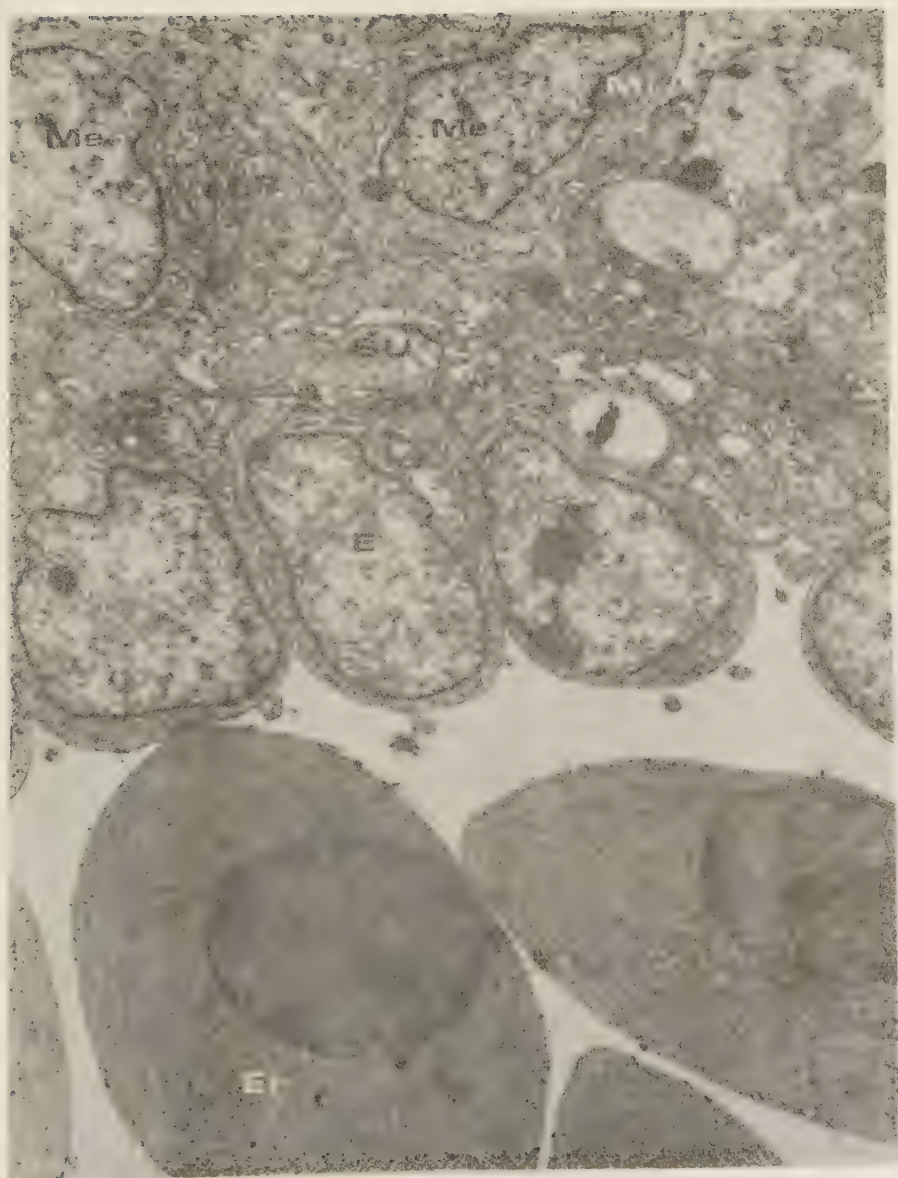


Abb. 23.

Abb.24: Dorsaler Bereich der Aortenwand eines Hühnerembryos
Tag 8. Zellzunahme und Verdichtung im Bereich der
media (Mc) und Adventitia (A). M=embryonale Mesen-
chymzelle, E=Endothel, Er=Erythroblast.
Vergr. 1:6000



Abb. 24

Abb.25: Laterale Aortenwand eines Hühnerembryos Tag 8. Die Media (ME) und Adventitia (A) besteht noch nicht aus so vielen Zellen wie im dorsalen Bereich. (Abb.24)
Mt=Mitose einer Mediazelle, E=Endothelzelle, er=Erythroblast.
Vergr. 1:6000



Abb.25

Abb.26: Endothel (E) und Media (ME) der Aorta eines Hühner-
embryos Tag 8. Im subendothelialen Spalt (SU) sind
neben Kollagenfibrillen (↗) erste Elastininseln
(↗) sichtbar. My=Myofilamente der Mediazelle,
Mi=Mitochondrien.
Vergr. 1:50000



Abb.26

Abb. 27: Aortenmedia (AM) eines Hühnereimbryos Tag 8. In den Interzellularräumen sind deutlich Elastininseln (↗) erkennbar. Daneben findet man Kollagenfibrillen (↗↗) Mi=Mitochondrien, P=freie Ribosomen in Form von Polysomengruppen, My=Myofilamente.
Vergr. 1:60000

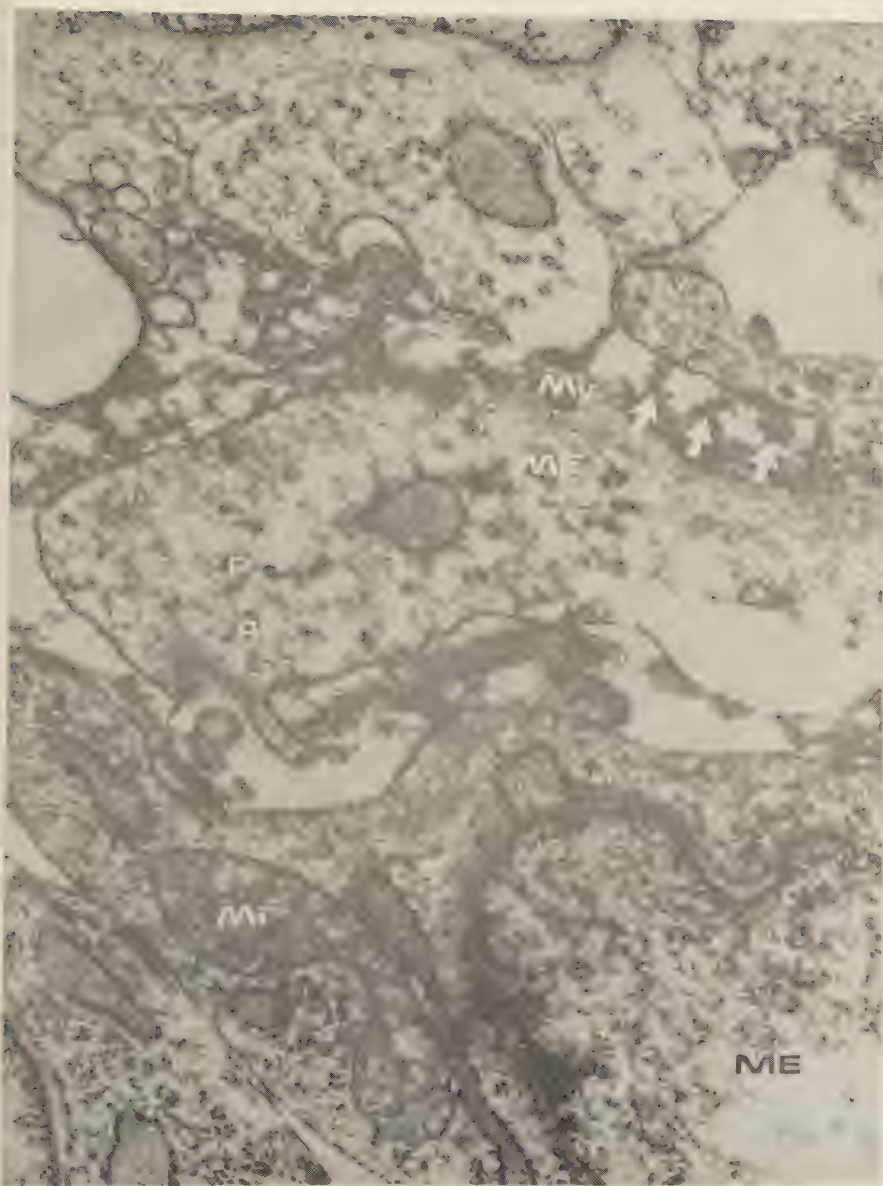


Abb.28: Endothel und Media der Aorta eines Hühnerembryos
Tag 10. Auch in den Endothelzellen (E) hat die Zahl
der Zellorganellen zugenommen (Mi=Mitochondrien,
ER=endoplasmatisches Retikulum, G=Golgiapparat).
In dem Cytoplasma der Mediazellen (Me), Myofilamente
(My) und zahlreiche freie Ribosomen in Form von
Polysomengruppen (P): Im Interzellularraum kollagen-
fibrillen (↗) und Elastininseln (H↗).
Vergr. 1:50000

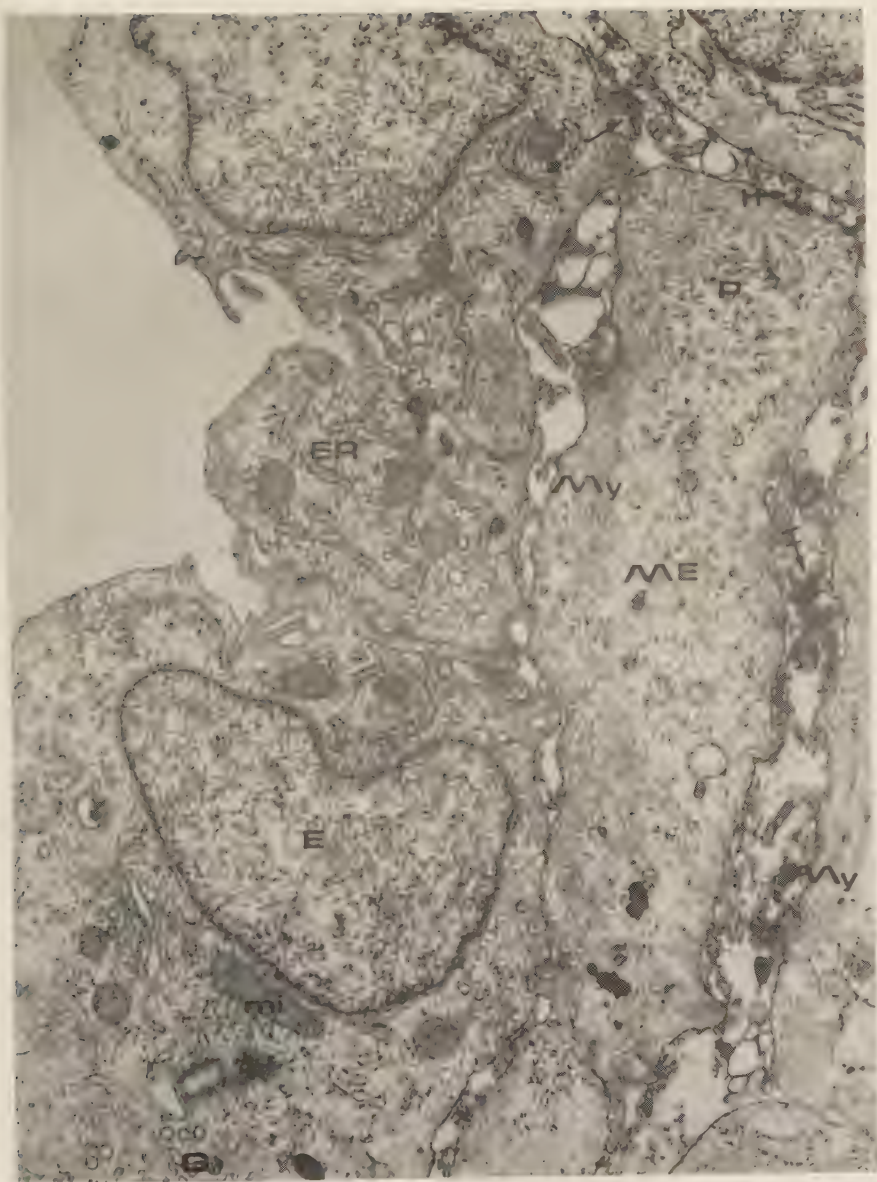


Abb.29: Endothel (E) und Media (ML) der Aorta eines Hühner-
embryos Tag 10. Starke Zunahme der Myofilamente (My)
im Cytoplasma der Mediazellen (ML) gegenüber den
Vortagen. Verdichtung des Interzellularraums (IZ)
durch Zunahme der Interzellulärsubstanz (Kollagen
= ↗, Elastin= ↗).
Vergr. 1:15000



Abb. 29

Abb.30: Media der Aorta eines Hühnerembryos Tag 10. Neben den Myofilamenten (My) befinden sich im Cytoplasma der Mediazellen zahlreiche Zellorganellen (Mitochondrien=Mi, endoplasmatisches Retikulum=ER, Golgiapparat=G) als Zeichen der biochemischen Aktivitäten dieser Zellen. In den Interzellularräumen sind die Kollagenfibrillen z.T. schon zu größeren Einheiten zusammengetreten (↗) ↗ = Elastininseeln.
Vergr. 1:30000

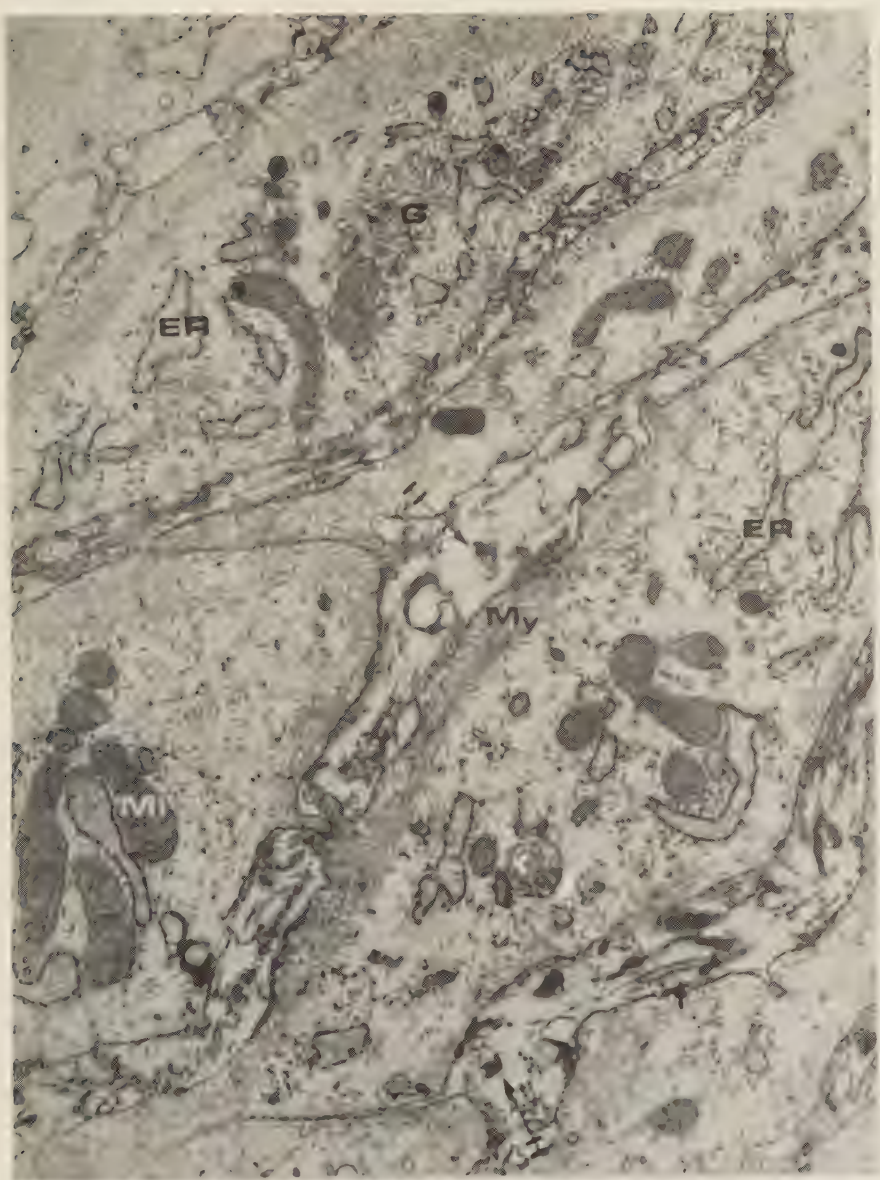


Abb. 30

Abb.31: Adventitia nahe Media der Aorta eines Hühnerembryos
Tag 10. Auch in den vom Gefäßlumen fernen Mediazellen
dichtgepackte Myofilamente, und zahlreiche Zell-
organellen (Mitochondrien=Mi, Golgiapparat=G,
endoplasmatisches Retikulum=ER. Im Interzellularraum
sind ebenfalls Elastininseln (↗) vorhanden.
Vergr. 1:30000

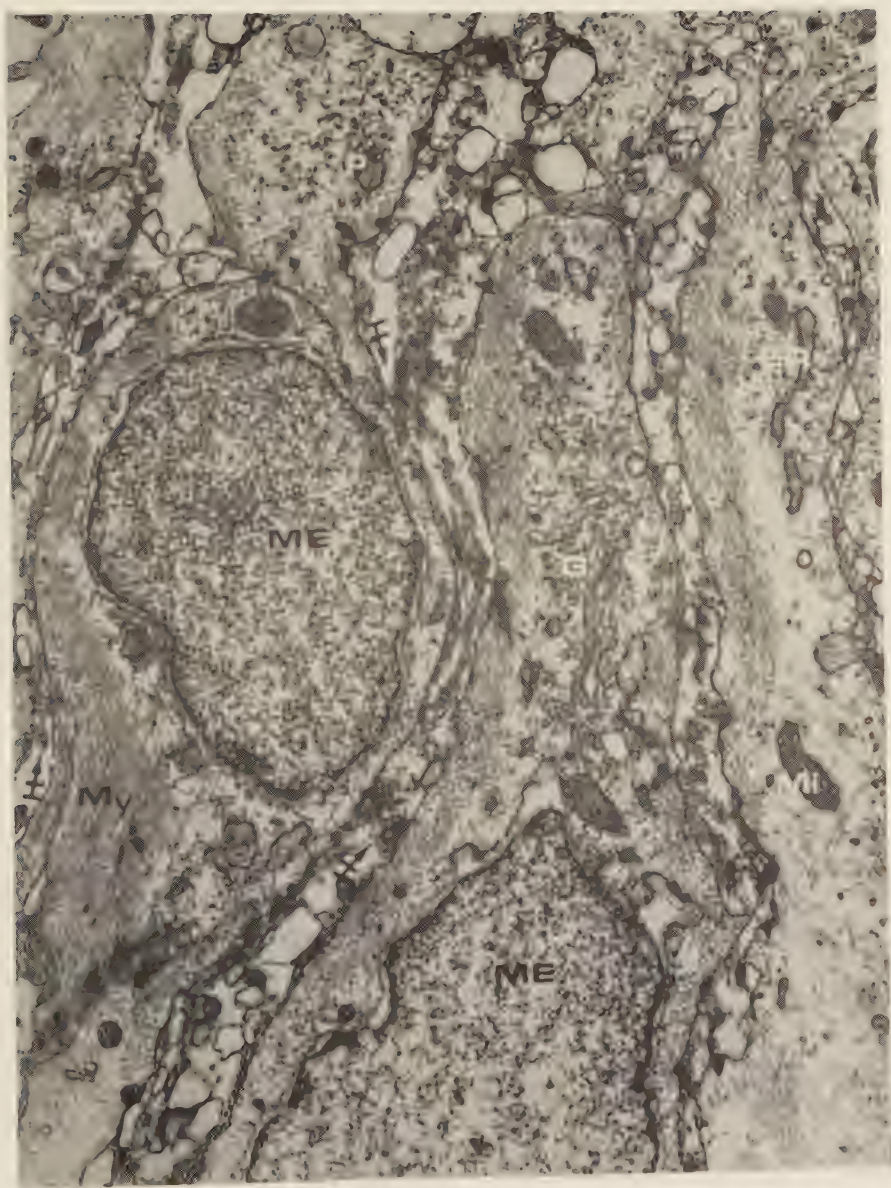


Abb. 31

Abb.32: Ventrikeldruckkurve eines Hühnerembryos Tag 3, Herzfrequenz=100 Schläge/min, Papiergeschwindigkeit=1000 mm/min. Ein Teilstrich der Druckskala entspricht = 0,0074 mm Hg. Eigenfrequenz des Meßsystems = 11,6Hz.

Abb.33: Ventrikeldruckkurve eines Hühnerembryos Tag 4. Herzfrequenz = 105 Schläge/min, Papiergeschwindigkeit=500 mm/min. Ein Teilstrich der Druckskala entspricht= 0,01 mm Hg. Eigenfrequenz des Meßsystems = 11,6Hz.

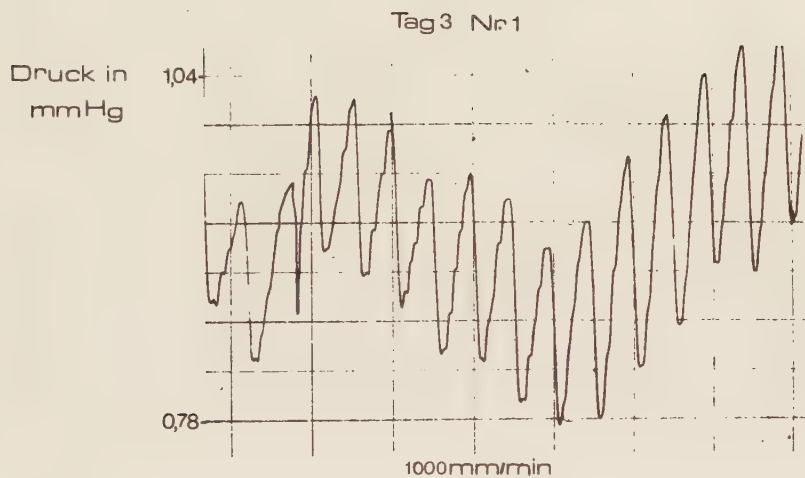


Abb. 32

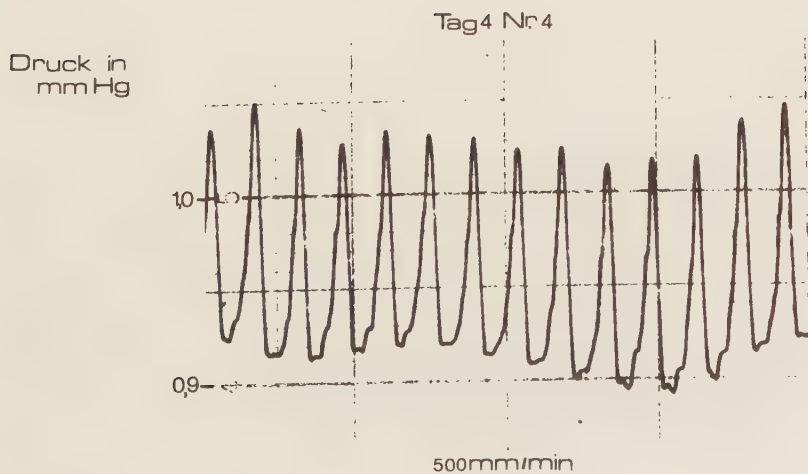


Abb. 33

Abb.34: Ventrikeldruckkurve eines Hühnerembryos Tag 5.
Herzfrequenz=135 Schläge/min, Papiergeschwindigkeit=
1000 mm/min. Ein Teilstrich der Druckskala entspricht
= 0,02 mm Hg. Eigenfrequenz des Meßsystems=18,17Hz.

Abb.35: Ventrikeldruckkurve eines Hühnerembryos Tag 6.
Herzfrequenz=145 Schläge/min, Papiergeschwindigkeit=
1000 mm/min. Ein Teilstrich der Druckskala entspricht
= 0,028 mm Hg. Eigenfrequenz des Meßsystems=18,17Hz.
Zwischen jedem Ventrikelaruckanstieg ist eine Vorhof-
welle (Pfeil) erkennbar.

Tag5 Nr1

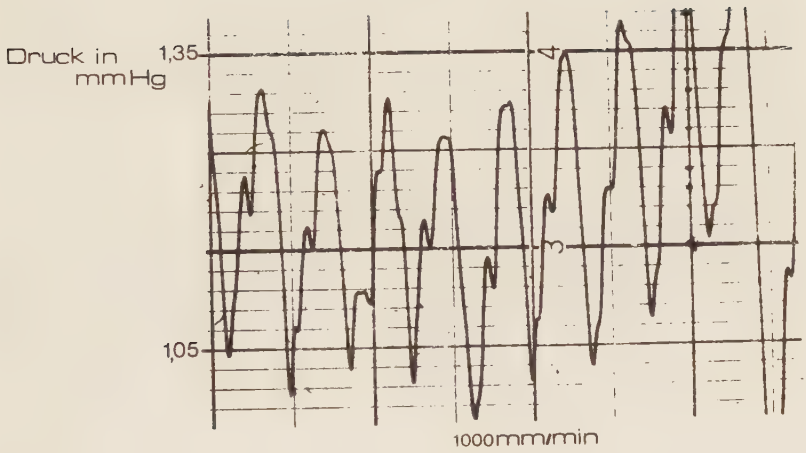


Abb.34

Tag6 Nr4

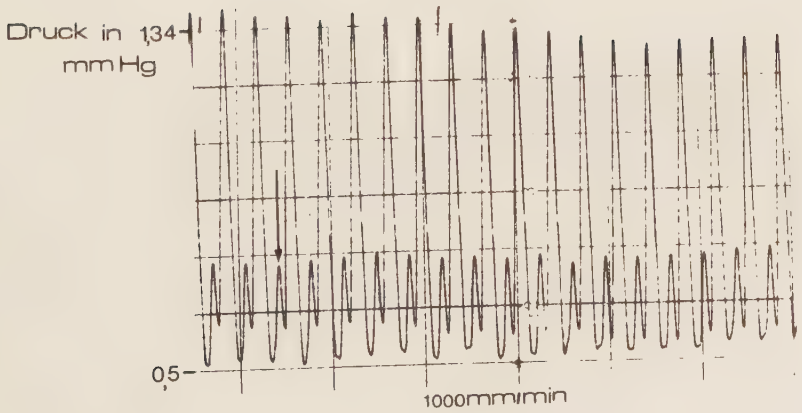


Abb.35

Abb.36: Ventrikeldruckkurve eines Hühnerembryos Tag 7.
Herzfrequenz= 150 Schläge/min, Papiergeschwindigkeit
= 1000 mm/min. Ein Teilstrich der Druckskala ent-
spricht = 0,0625 mm Hg. Eigenfrequenz des Meßsystems
= 18,75Hz. Die Vorhofwelle (Pfeil) wird z.T. durch
die Ventrikeldruckkurve überlagert.

Abb.37: Ventrikeldruckkurve eines Hühnerembryos Tag 8 im
"Schockzustand". Anstieg der Herzfrequenz von 145
Schläge/min (siehe Blutdrucktabelle) auf 200 Schläge/
min. Verminderung der Druckamplitude vor allem durch
Anstieg des diastolischen Ventrikeldrucks. Ein Teil-
strich der Druckskala entspricht = 0,1 mm Hg. Eigen-
frequenz des Meßsystems = 18,75Hz.

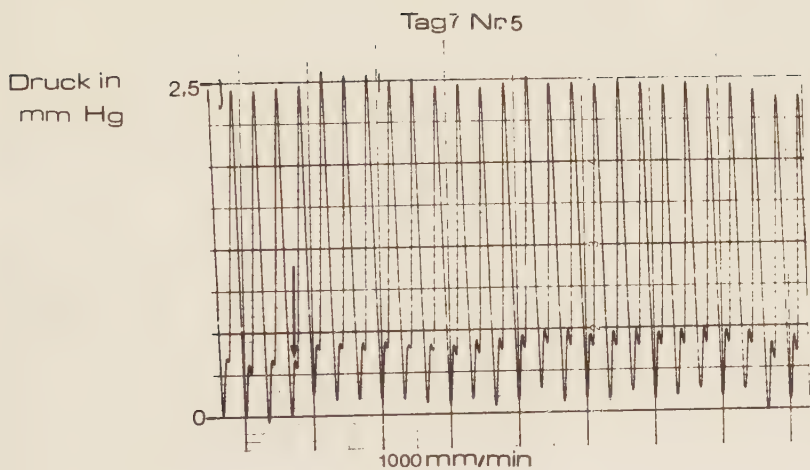


Abb.36

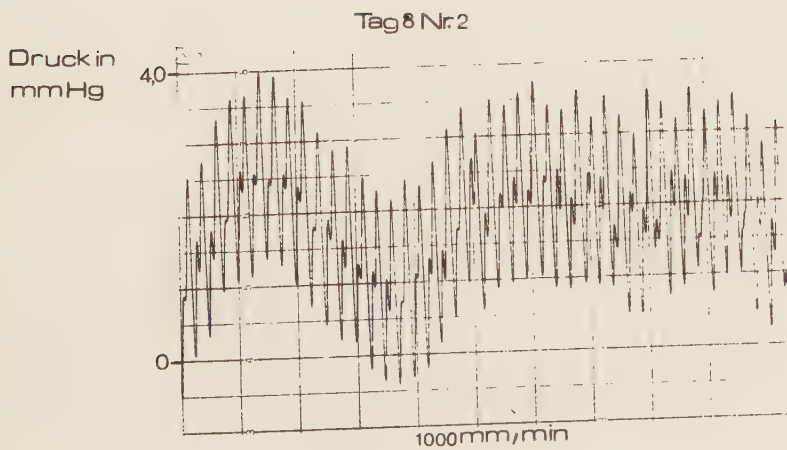


Abb.37

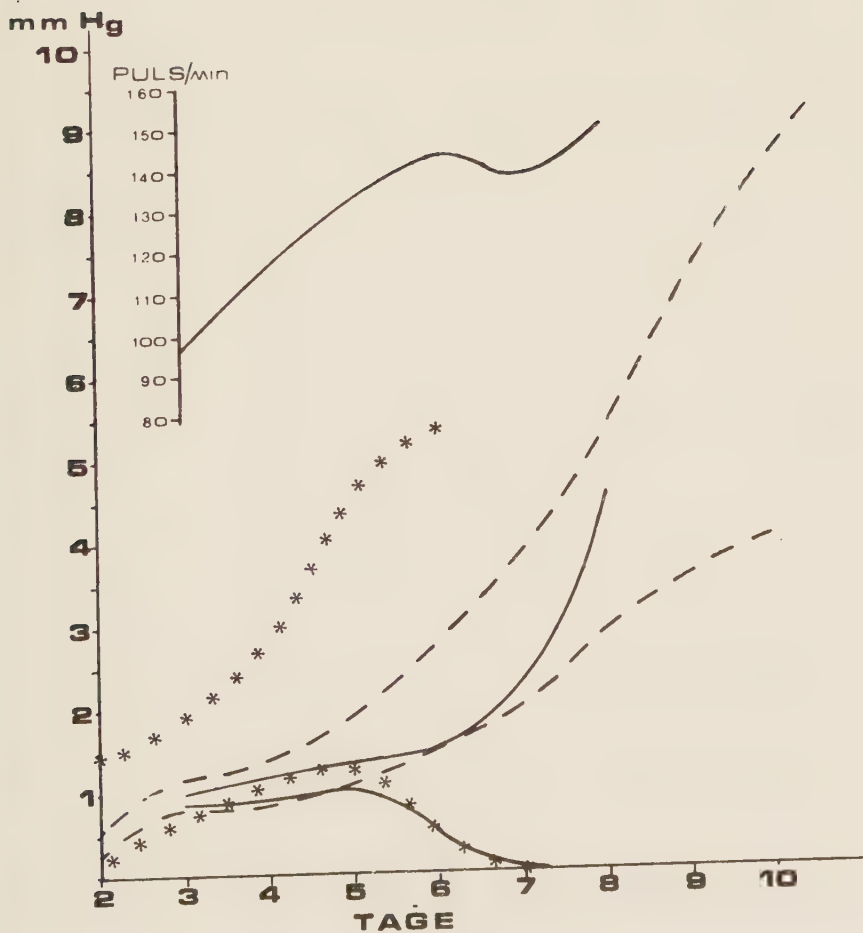
Abb.38: Übersicht über das systolische und diastolische Ventrikeldruckverhalten von Hühnerembryonen:

xxxx = von Paff (1965) nach der Landis-Methode ermittelten Ventrikeldruckwerte

----- von van Mierop (1967) mit einem elektronischen Meßsystem ermittelten Blutdruckwerte in Dotterarterien

_____ = im Rahmen dieser Arbeit mit einem elektronischen Meßsystem ermittelten Ventrikeldruckwerte.

Im oberen Teil der Graphik: Übersicht über die Herzfrequenzänderungen des Hühnerembryos zwischen drittem und achtem Entwicklungstag.



21.3.1976

Lebenslauf

24. Mai 1945 als Sohn des Pharmakologen Prof. Dr. Hans Herken und seiner Ehefrau Eva, geb. Gramse-Rackwitz, in Berlin geboren.
3. März 1965 Abitur an der Schadow-Schule in Berlin-Zehlendorf.
1. April-30. Sept. 1965 Feinmechanische Grundausbildung bei der I B M - Deutschland in Berlin.
15. Okt. 1965-
14. Okt. 1966 Studium der Physik an der TU-Berlin.
15. Okt. 1966 Immatrikulation an der FU-Berlin für das Fach Humanmedizin.
27. März 1968 Vorphysikum an der FU-Berlin.
13. April 1970 Physikum an der FU-Berlin.
28. Mai 1970 Eheschließung mit Dolmetscherin Cecilia Stickler
2. Dez. 1971 Geburt unserer Tochter Anna.
21. Aug. 1973 Staatsexamen an der FU-Berlin.
15. Okt. 1973-
14. Feb. 1974 Medizinalassistent am II. Anatomischen Institut der FU-Berlin.
6. Jan. 1974 Geburt unserer Tochter Sophie.
15. Feb. 1974-
15. Juni 1974 Medizinalassistent in der inneren Abteilung des Behring-Krankenhauses in Berlin-Zehlendorf.
1. Juli 1974-
31. Okt. 1974 Medizinalassistent in der chirurgischen Abteilung des Behring-Krankenhauses in Berlin-Zehlendorf.
1. Nov. 1974 Approbation als Arzt.
- Seit dem Anstellung als wissenschaftlicher Assistent am
1. Nov. 1974 I. Anatomischen Institut der FU-Berlin.

